

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF WITHDRAWAL
OF PRIORITY CLAIM

(PCT Rule 90bis.3 and
Administrative Instructions, Section 415(a) and (b))

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

KUKSHINA, Tatyana Arkhipovna
Patent Attorneys' Agency "Vepol"
a/ya 3
Kiev, 252119
UKRAINE

Date of mailing (day/month/year) 28 May 1999 (28.05.1999)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference	
International application No. PCT/UA98/00020	International filing date (day/month/year) 16 December 1998 (16.12.1998)
Applicant TSENTR EMBRIONALNYKH TKANEI "EMCELL"	

1. The applicant is hereby notified that the priority claim made in the international application has been withdrawn in accordance with a notice of withdrawal received from the applicant on:

22 January 1999 (22.01.1999)

The attention of the applicant is drawn to the fact that the withdrawal of the priority claim will result in the re-calculation of time limits which have not already expired (see Rule 90bis.3(d)).

2. ☐ In the case where multiple priorities have been claimed, the above action relates to the following priority claim(s):

3. A copy of this notification has been sent to the receiving Office and to:

- ☒ the International Searching Authority (where the international search report has not yet been issued)
☒ the designated Offices (which have already been notified of the receipt of the record copy)
☐ the International Preliminary Examining Authority

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer Beatriz Morariu Telephone No. (41-22) 338.91.11
--	--

BEST COPY

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C. 20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 18 September 2000 (18.09.00)	
International application No. PCT/UA98/00020	Applicant's or agent's file reference
International filing date (day/month/year) 16 December 1998 (16.12.98)	Priority date (day/month/year)
Applicant SMIKODUB, Alexandr Ivanovich	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

05 July 2000 (05.07.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer Beatriz Morariu</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	---

BEST COPY

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ДОГОВОР О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ

PCT

ЗАКЛЮЧЕНИЕ МЕЖДУНАРОДНОЙ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ

(статья 36 и правило 70 PCT)

REC'D 02 FEB. 2001

WIPO

PCT

T16

№ дела заявителя или агента:	Для дальнейших действий см. уведомление о пересылке заключения международной предварительной экспертизы (форма PCT/PEA/416).	
Номер международной заявки: PCT/UA 98/00020	Дата международной подачи: 16 декабря 1998 (16.12.1998)	Самая ранняя дата приоритета:
Международная патентная классификация (МПК-7): A61K35/54		
Заявитель: ЦЕНТР ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ "ЭМСЕЛЛ" и др.		
<p>1. Данное заключение международной предварительной экспертизы подготовлено настоящим Органом международной предварительной экспертизы и направлено заявителю в соответствии со статьей 36 PCT.</p> <p>2. Данное заключение содержит всего <u>3</u> листа, включая данный общий лист</p> <p><input type="checkbox"/> Данное заключение сопровождается также ПРИЛОЖЕНИЯМИ, т.е. листами описания, формулы и/или чертежей, которые были изменены и являются основой для данного заключения и/или листами, содержащими исправления, представленные настоящему Органу (см.Правило 70.16 и пункт 607 Административной инструкции PCT).</p> <p>Упомянутые приложения содержат всего _____ листа</p>		
<p>3. Данное заключение содержит информацию, относящуюся к следующим разделам</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Основа заключения</p> <p>II <input type="checkbox"/> Приоритет</p> <p>III <input type="checkbox"/> Отсутствие заключения относительно новизны, изобретательского уровня и промышленной применимости</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Нарушение единства изобретения</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Утверждение относительно новизны, изобретательского уровня и промышленной применимости; ссылки и пояснения в обоснование утверждения (Статья 35(2))</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Некоторые цитируемые документы</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Некоторые дефекты международной заявки</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Некоторые замечания, касающиеся международной заявки</p>		
Дата представления требования: 05 июля 2000(05.07.2000)	Дата подготовки заключения: 25 декабря 2000 (25.12.2000)	
Наименование и адрес Органа международной предварительной экспертизы: Федеральный институт промышленной собственности Россия, 121858, Москва, Бережковская наб., 30-1 Факс: 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА	Уполномоченное лицо: К.Савченко Телефон №: (095)240-2591	

Форма PCT/PEA/409 (общий лист) (июль 1998)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ МЕЖДУНАРОДНОЙ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ

Международная заявка №
PCT/UA 98/00020

I. Основа заключения

1. Элементы международной заявки:*

- ☒ международная заявка в том виде, в котором она была подана
- ☐ описание:
- | | | | |
|-------|-------|--------------------------------|-------|
| _____ | _____ | первоначально поданные | _____ |
| _____ | _____ | поданные вместе с требованием, | _____ |
| _____ | _____ | поданные с письмом от | _____ |
- ☐ формула изобретения:
- | | | | |
|-------|-------|---|-------|
| _____ | _____ | первоначально поданные | _____ |
| _____ | _____ | поданные (вместе с объяснениями) по Статье 19 | _____ |
| _____ | _____ | поданные вместе с требованием, | _____ |
| _____ | _____ | поданные с письмом от | _____ |
- ☐ чертежи:
- | | | | |
|-------|-------|--------------------------------|-------|
| _____ | _____ | первоначально поданные, | _____ |
| _____ | _____ | поданные вместе с требованием, | _____ |
| _____ | _____ | поданные с письмом от | _____ |
- ☐ часть описания, касающаяся перечня последовательностей:
- | | | | |
|-------|-------|--------------------------------|-------|
| _____ | _____ | первоначально поданные, | _____ |
| _____ | _____ | поданные вместе с требованием, | _____ |
| _____ | _____ | поданные с письмом от | _____ |

2. Все отмеченные выше элементы были поданы в настоящий Орган или представлены на языке, на котором была подана международная заявка, если иное не указано в данном пункте.

Эти элементы были поданы в настоящий Орган или представлены на следующем языке _____
который является:

- ☐ языком перевода, представленного для целей международного поиска (Правило 23.1 (в)).
- ☐ языком публикации международной заявки (Правило 48.3 (в)).
- ☐ языком перевода, представленного для целей международной предварительной экспертизы (Правило 55.2 и/или 55.3).

3. Относительно любой последовательности нуклеотидов и/или аминокислот, содержащейся в международной заявке, международная предварительная экспертиза была проведена на основе перечня последовательностей:

- ☐ содержащегося в международной заявке в письменной форме.
- ☐ поданного вместе с международной заявкой в машиночитаемой форме.
- ☐ представленного позже в настоящий Орган в письменной форме.
- ☐ представленного позже в настоящий Орган в машиночитаемой форме.
- ☐ Представлено утверждение о том, что позже представленный перечень последовательностей в письменной форме не выходит за пределы раскрытого в международной заявке в том виде, в каком она была подана.
- ☐ Представлено утверждение о том, что информация, записанная в машиночитаемой форме, идентична перечню последовательностей в письменной форме.

4. ☐ Изменения привели к изъятию:

- ☐ страниц описания _____
- ☐ пунктов формулы №№ _____
- ☐ страницы/фиг. чертежей _____

5. ☐ Настоящее заключение составлено без учета (некоторых) изменений, так как они выходят за рамки первоначально поданных материалов заявки, как указано на дополнительном листе (Правило 70.2(c))**

* Заменяющие листы, которые были представлены в Получающее ведомство в ответ на его предложение в соответствии со Статьей 14, расцениваются в данном заключении как "первоначально поданные" и не прикладываются к заключению, поскольку они не содержат исправлений (Правило 70.16 и 70.17)

** Любой заменяющий лист, содержащий такие изменения, должен быть рассмотрен в соответствии с пунктом 1 и приложен к данному заключению.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ЭКСПЕРТИЗЫ

Международная заявка №

PCT/UA 98/00020

IV. Утверждение в соответствии со ст. 35(2) в отношении новизны, изобретательского уровня и промышленной применимости; ссылки и пояснения, подкрепляющие такое утверждение

1. Утверждение

Новизна (N)	Пункты	1	ДА
	Пункты		НЕТ
Изобретательский уровень (IS)	Пункты	1	ДА
	Пункты		НЕТ
Промышленная применимость (IA)	Пункты	1	ДА
	Пункты		НЕТ

2. Ссылки и пояснения (правило 70.7)

D1: RU 95102200

D2: RU 102184

D3: SU 1711896

D4: FR 2599972

D5: WO 96/30031

D6: WO 95/16455 – приведен в описании

Документы RU 2112525, RU 2112526, RU 2126260 опубликованы после даты испрашиваемого приоритета и не входят в уровень техники при оценке новизны и изобретательского уровня.

Документы D4 и D5 характеризуют общий уровень техники по общей проблеме.

В D1 описан способ лечения климактерического синдрома путем трансплантации гомогенизированной смеси органов и тканей нежизнеспособных плодов 16-20 недель.

В D2 описан способ терапии синдрома после тотальной овариэктомии, заключающийся во введении пациенткам гомогенизированной смеси органов и тканей нежизнеспособных плодов.

В D3 описан способ лечения длительно незаживающих ран путем укладывания в ложе раны криоконсервированной неонеотальной или эмбриональной ткани селезенки и тимуса.

Наиболее близким является документ D6, в котором для лечения СПИДА используют эмбриональные клеточные суспензии, выбранные из группы, состоящей из гемопоэтических клеток печени, селезенки и их смеси, и фармацевтически приемлемую жидкую среду.

Заявленный способ лечения людей эмбриональными клеточными суспензиями предусматривает использование, кроме основной суспензии, (совпадающей с клеточной суспензией по D6) дополнительной клеточной суспензии, которая содержит клетки, выбранные из группы, состоящей из стволовых клеток гемопоэза печени, селезенки, гепатоцитов, тимоцитов, эпителиоцитов первичного пищевого канала, нервных клеток мозга и смесей клеток, по меньшей мере, двух указанных видов. При совместном применении основной и дополнительной суспензий достигается синергический эффект при лечении пациентов с такими тяжелыми заболеваниями, как рассеянный склероз, первичная дистрофия мозга и др. Эти сведения не известны из источников D1-D6 и не следуют из них с очевидностью для специалиста. Заявленный способ обладает новизной и изобретательским уровнем.

Изобретение обладает промышленной применимостью.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

FORM PTO-1390
(REV 10-2000)

U.S. DEPARTMENT OF COMMERCE PATENT AND TRADEMARK OFFICE

ATTORNEY'S DOCKET NUMBER

205,209

**TRANSMITTAL LETTER TO THE UNITED STATES
DESIGNATED/ELECTED OFFICE (DO/EO/US)
CONCERNING A FILING UNDER 35 U.S.C. 371**

U.S. APPLICATION NO. (If known, see 37 CFR 1.5)

09/868608

INTERNATIONAL APPLICATION NO.
PCT/UA98/000020

INTERNATIONAL FILING DATE
December 16, 1998

PRIORITY DATE CLAIMED

TITLE OF INVENTION METHOD FOR TREATMENT OF PATIENTS USING EMBRYONIC CELL SUSPENSIONS

APPLICANT(S) FOR DO/EO/US Alexandr Ivanovich SMIKODUB

Applicant herewith submits to the United States Designated/Elected Office (DO/EO/US) the following items and other information:

1. ☒ This is a **FIRST** submission of items concerning a filing under 35 U.S.C. 371.
2. ☐ This is a **SECOND** or **SUBSEQUENT** submission of items concerning a filing under 35 U.S.C. 371.
3. ☒ This is an express request to promptly begin national examination procedures (35 U.S.C. 371(f)).

started by the expiration of 19 months from the priority date (PCT Article 31).

**Hon. Commissioner of Patents
and Trademarks**

**Date Stamp as acknowledgement
of receipt of:**

SMIKODUB Control No.205,209
National Phase PCT Appln.; Spec. w/claims;
Declar. & Power of Att'y; Assign. w/cover sheet,

JSC:es
6/18/01
ek.No.9003

UA00020
09/868608

JC17 Rec'd PCT/PTO 1.8 JUN 2001

PCT/UA98/00020
6/25/01

US).

1(c)(3))

**INT OF FILING BY
MAIL (37 CFR § 1.10)**

spondence is being
with the United States
vice on

1 in an
as "Express Mail Post
Addressee" Mailing
mber

14836US addressed to
of the U.S. Patent and
ark Office, Washington, D.C. 20231.

12. ☐ All assignments

13. ☐ A FIRST preliminary amendment.
- ☐ A SECOND or SUBSEQUENT preliminary amendment.

14. ☐ A substitute specification.

15. ☐ A change of power of attorney and/or address letter.

16. ☒ Other items or information: Specification with claims and Abstract.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

TECH CENTER 1600/2900

NOV 06 2001

RECEIVED

9/868608
0500
Translation

Applicant's or agent's file reference	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/UA98/00020	International filing date (day/month/year) 16 December 1998 (16.12.98)	Priority date (day/month/year)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 35/54		
Applicant TSENTR EMBRIONALNYKH TKANEI "EMCELL"		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.	
2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.	
<input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.	
3. This report contains indications relating to the following items:	
I <input checked="" type="checkbox"/>	Basis of the report
II <input type="checkbox"/>	Priority
III <input type="checkbox"/>	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
IV <input type="checkbox"/>	Lack of unity of invention
V <input checked="" type="checkbox"/>	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
VI <input type="checkbox"/>	Certain documents cited
VII <input type="checkbox"/>	Certain defects in the international application
VIII <input type="checkbox"/>	Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 05 July 2000 (05.07.00)	Date of completion of this report 25 December 2000 (25.12.2000)
Name and mailing address of the IPEA/RU	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

international application No.

PCT/UA98/00020

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☒ the international application as originally filed.
- ☐ the description, pages _____, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the claims, Nos. _____, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. _____, filed with the letter of _____,
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/UA 98/00020

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

D1: RU 95102200

D2: RU 102184

D3: SU 1711896

D4: FR 2599972

D5: WO 96/30031

D6: WO 95/16455 - cited in the description

Documents RU 2112525, RU 2112526 and RU 2126260 were published after the requested priority date and do not constitute part of the prior art when assessing novelty and inventive step.

Documents D4 and D5 describe the state of the prior art for the problem as a whole.

D1 describes a method for treating the menopausal syndrome by transplanting a homogenised mixture made of organs and tissues from nonviable 16-20 week-old fetuses.

D2 describes a method of therapy for the syndrome following complete ovariectomy, consisting of administering to patients a homogenised mixture made of organs and tissues from nonviable 16-20 week-old

THIS PAGE BLANK (USPTO)

foetuses.

D3 describes a method for treating very slow-healing wounds by packing the wound bed with freeze-preserved neonatal or embryonic spleen and thymus tissues.

D6 is the closest prior art, in which AIDS is treated using suspensions of embryonic cells, selected from a group consisting of haemopoietic liver cells, spleen cells, and a mixture thereof, and a pharmaceutically acceptable liquid medium.

The claimed method of treating people using suspensions of embryonic cells involves using, apart from the basic suspension (which coincides with the cell suspension as per D6), an additional suspension of cells which comprises cells selected from groups consisting of haemopoietic stem cells of the liver and spleen, hepatocytes, thymocytes, epithelial cells of the upper alimentary canal, brain nerve cells and mixtures of cells from at least two of the kinds mentioned. By applying the basic and the additional suspensions, a synergetic effect is achieved in the treatment of patients with such grave illnesses as multiple sclerosis, early brain malnutrition, etc. This information is not known from documents D1-D6 and does not follow obviously therefrom to a person skilled in the art. The method is novel and involves an inventive step.

The invention is industrially applicable.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

РСТ

ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
Международное бюро



МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ С
ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(51) Международная классификация изобретения⁶: A61K 35/54	A1	(11) Номер международной публикации: WO 00/3546 (43) Дата международной публикации: 22 июня 2000 (22.06.00)
(21) Номер международной заявки RST/UA98/00020 (22) Дата международной подачи: 16 декабря 1998 (16.12.98) (71) Заявитель (для всех указанных государств, кроме (US): ЦЕНТР ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ «ЭМСЕЛЛ» [UA/UA]; 252110 Киев, ул. Соломенская, д. 17, корп. 1 (UA) [TSENTR EMBRIONALNYKH TKANEI «EM-CELL», Kiev (UA)]. (72) Изобретатель; и (75) Изобретатель/Заявитель (только для (US): СМІКО-ДУБ Александр Иванович [UA/UA]; 252021 Киев, пер. Ивана Марьяненко, д. 11/12, кв. 26 (UA) [SMI-KODUB, Alexandr Ivanovich, Kiev (UA)]. (74) Агент: КУКШИНА Татьяна Архиповна; Агентство Патентных поверенных "Веполь", 252119 Киев, а/я 3 (UA) [KUKSHINA, Tatiyana Arkhipovna, Kiev (UA)].	(81) Указанные государства: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, европейский патент (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), евразийский патент (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), патент ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), патент OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Опубликована С отчётом о международном поиске.	
(54) Title: METHOD FOR TREATING PATIENTS USING CELLULAR SUSPENSIONS OF EMBRYONIC TISSUES		
(54) Название изобретения: СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЛЮДЕЙ ЭМБРИОНАЛЬНЫМИ КЛЕТОЧНЫМИ СУСПЕНЗИЯМИ		
(57) Abstract The present invention relates to a method for treating patients using cellular suspensions of embryonic tissues. This method comprises preparing a main suspension containing human embryonic cells which are selected from the group comprising liver hematopoietic cells, spleen hematopoietic cells or a mixture thereof. This main suspension also includes a pharmaceutically acceptable liquid carrier. The method also comprises preparing an additional suspension which contains cells selected from the group comprising stem cells from the liver hematopoiesis, stem cells from the spleen hematopoiesis, hematocytes, thymocytes, epithelial cells from the primary digestive tract, nerve cells from the marrow or mixtures of at least two types of the above-mentioned cells. Both suspensions are used in combination for treating internal conditions in patients where other present methods and agents have no effect.		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

РСТ

ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
Международное бюро



**МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ С
ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)**

(51) Международная классификация изобретения⁶: A61K 35/54	A1	(11) Номер международной публикации: WO 00/35464 (43) Дата международной публикации: 22 июня 2000 (22.06.00)
(21) Номер международной заявки PCT/UA98/00020 (22) Дата международной подачи: 16 декабря 1998 (16.12.98) (71) Заявитель (для всех указанных государств, кроме (US): ЦЕНТР ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ «ЭМСЕЛЛ» [UA/UA]; 252110 Киев, ул. Соломенская, д. 17, корп. 1 (UA) [TSENTR EMBRIONALNYKH TKANEI «EM-CELL», Kiev (UA)]. (72) Изобретатель; и (75) Изобретатель/Заявитель (только для (US): СМКО-ДУБ Александр Иванович [UA/UA]; 252021 Киев, пер. Ивана Марьяненко, д. 11/12, кв. 26 (UA) [SMI-KODUB, Alexandr Ivanovich, Kiev (UA)]. (74) Агент: КУКШИНА Татьяна Архиповна; Агентство Патентных поверенных "Веполь", 252119 Киев, а/я 3 (UA) [KUKSHINA, Tatiyana Arkhipovna, Kiev (UA)].		(81) Указанные государства: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, европейский патент (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), евразийский патент (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), патент ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), патент OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Опубликована С отчётом о международном поиске.
(54) Title: METHOD FOR TREATING PATIENTS USING CELLULAR SUSPENSIONS OF EMBRYONIC TISSUES (54) Название изобретения: СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЛЮДЕЙ ЭМБРИОНАЛЬНЫМИ КЛЕТОЧНЫМИ СУСПЕНЗИЯМИ (57) Abstract <p>The present invention relates to a method for treating patients using cellular suspensions of embryonic tissues. This method comprises preparing a main suspension containing human embryonic cells which are selected from the group comprising liver hematopoietic cells, spleen hematopoietic cells or a mixture thereof. This main suspension also includes a pharmaceutically acceptable liquid carrier. The method also comprises preparing an additional suspension which contains cells selected from the group comprising stem cells from the liver hematopoiesis, stem cells from the spleen hematopoiesis, hematocytes, thymocytes, epithelial cells from the primary digestive tract, nerve cells from the marrow or mixtures of at least two types of the above-mentioned cells. Both suspensions are used in combination for treating internal conditions in patients where other present methods and agents have no effect.</p>		

Способ лечения людей клеточными суспензиями эмбриональных тканей предусматривает приготовление основной суспензии, которая содержит клетки человеческого эмбриона, выбранные из группы, состоящей из гемопоэтических клеток печени, гемопоэтических клеток селезенки и их смеси, и фармацевтически приемлемую жидкую среду, и по меньшей мере одной дополнительной суспензии, которая содержит клетки, выбранные из группы, состоящей из стволовых клеток гемопоэза печени, стволовых клеток гемопоэза селезенки, гепатоцитов, тимоцитов, эпителиоцитов первичного пищевого канала, нервных клеток мозга и смесей клеток по меньшей мере двух указанных видов, и совместное использование обеих суспензий для лечения таких внутренних болезней людей, при лечении которых иные современные методы и средства оказались неэффективными.

ИСКЛЮЧИТЕЛЬНО ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИНФОРМАЦИИ

Коды, используемые для обозначения стран-членов РСТ на титульных листах брошюр, в которых публикуются международные заявки в соответствии с РСТ.

AL	Албания	GE	Грузия	MR	Мавритания
AM	Армения	GH	Гана	MW	Малави
AT	Австрия	GN	Гвинея	MX	Мексика
AU	Австралия	GR	Греция	NE	Нигер
AZ	Азербайджан	HU	Венгрия	NL	Нидерланды
BA	Босния и Герцеговина	IE	Ирландия	NO	Норвегия
BB	Барбадос	IL	Израиль	NZ	Новая Зеландия
BE	Бельгия	IS	Исландия	PL	Польша
BF	Буркина-Фасо	IT	Италия	PT	Португалия
BG	Болгария	JP	Япония	RO	Румыния
BJ	Бенин	KE	Кения	RU	Российская Федерация
BR	Бразилия	KG	Киргизстан	SD	Судан
BY	Беларусь	KP	Корейская Народно-Демократическая Республика	SE	Швеция
CA	Канада	KR	Республика Корея	SG	Сингапур
CF	Центрально-Африканская Республика	KZ	Казахстан	SI	Словения
CG	Конго	LC	Сент-Люсия	SK	Словакия
CH	Швейцария	LI	Лихтенштейн	SN	Сенегал
CI	Кот-д'Ивуар	LK	Шри-Ланка	SZ	Свазиленд
CM	Камерун	LR	Либерия	TD	Чад
CN	Китай	LS	Лесото	TG	Того
CU	Куба	LT	Литва	TJ	Таджикистан
CZ	Чешская Республика	LU	Люксембург	TM	Туркменистан
DE	Германия	LV	Латвия	TR	Турция
DK	Дания	MC	Монако	TT	Тринидад и Тобаго
EE	Эстония	MD	Республика Молдова	UA	Украина
ES	Испания	MG	Малагаскар	UG	Уганда
FI	Финляндия	MK	Бывшая югославская Республика Македония	US	Соединенные Штаты Америки
FR	Франция	ML	Мали	UZ	Узбекистан
GA	Габон	MN	Монголия	VN	Вьетнам
GB	Великобритания			YU	Югославия
				ZW	Зимбабве

СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЛЮДЕЙ
ЭМБРИОНАЛЬНЫМИ КЛЕТОЧНЫМИ СУСПЕНЗИЯМИ

Область техники

Изобретение относится к основанным на применении
05 эмбриональных клеточных суспензий методам лечения преимущественно таких внутренних болезней людей, при лечении которых иные современные методы и средства оказались неэффективными.

Предлагаемые методы, именуемые далее "клеточной тера-
10 рапией", в зависимости от вида и тяжести заболевания по выбору врача могут быть использованы в клинических и амбулаторных условиях.

Уровень техники

Клеточная терапия является относительно новым раз-
15 делом трансплантологии. Она основана на использовании суспензий, приготовленных из живых клеток трупов человеческих эмбрионов. Такие клетки после введения в организм реципиента способны приживаться, размножаться и выполнять необходимые функции.

20 Начало современного этапа клеточной терапии относится к семидесятым годам XX века, когда ее стали рассматривать как возможную альтернативу трансплантации костного мозга.

Так, в 1973 г. введением суспензии нативных клеток
25 печени человеческого эмбриона 7-недельной гестации впервые удалось восстановить гемопоэз у больной апластической анемией (Kelemen E. *Second J. Gematol.*, 1973, v.10, No.4, pp.305-308).

Позднее введением подобных суспензий удалось дос-
30 тичь положительных результатов при лечении первичных и вторичных миелодепрессивных состояний (Izzi T., Polehi O. et al. *Fetal liver transplantation*, Alan R. Liss, 1985, pp.237-249).

J.I.Touraine применял клеточную терапию при тяжелых
35 комбинированных иммунодефицитах, которые обусловлены наследственными дефектами генетического аппарата (см., например, *Transplantation Proceedings*, 1993, v.25, No.1,

pp.1012-1013). Действительно, введение детям здоровых в генетическом отношении пулов стволовых гемопоэтических клеток, особенно при раннем (вплоть до внутриутробного периода) вмешательстве позволяет компенсировать иммунные
05 дефекты.

Baechelta R. et al (*J. Clin. Invest.*, 1993, v.91, March, pp.1067-1078) показали отдаленные результаты клеточной терапии тяжелых комбинированных иммунодефицитов, когда наряду с восстановлением показателей иммунитета у
10 больных были обнаружены проявления расщепленного химеризма и толерантности к антигенам как хозяина, так и донора.

Однако в известных нам публикациях не раскрыты возможности применения клеточной терапии для лечения многих
15 серьезных заболеваний внутренних органов людей, при лечении которых иные современные методы и средства оказались неэффективными. Мало того, клеточная терапия применительно к лечению внутренних болезней вообще не упоминается даже в таком капитальном труде, как Harrison's
20 Principles of Internal Medicine, который издательство McGraw-Hill многократно переиздавало в разных странах и на разных языках.

Не раскрыли эти аспекты клеточной терапии и авторы способа лечения СПИДа эмбриональными клеточными суспензиями, на который А.И.Смикодуб, И.С.Марков и Е.М.Пилипчак подали Международную заявку PCT/UA94/00026 (см. Международную публикацию WO 95/16455 от 22.06.95).
25

Этот наиболее близкий к предлагаемому по технической сущности способ предусматривает:

30 приготовление суспензии, которая содержит клетки человеческого эмбриона, выбранные из группы, состоящей из гемопоэтических клеток печени, гемопоэтических клеток селезенки и их смеси, и фармацевтически приемлемую жидкую среду и в 1 мл которой присутствуют:

- 35 а) ядросодержащие клетки..... $5-200 \times 10^6$,
б) колониеобразующие единицы гранулоцитов/макрофагов (далее сокращенно - КОЕ ГМ)... $20-200 \times 10^3$,
в) колониеобразующие единицы гранулоцитов, эритро-

цитов, моноцитов/макрофагов и мегакариоцитов (далее сокращенно - КОЕ ГЕММ)..... $0,5-10 \times 10^3$ и г) ранние предшественники гемопоэза CD_{34+} (далее сокращенно - РПГ CD_{34})..... $1-20 \times 10^6$, -

05 и по меньшей мере однократное введение такой суспензии в организм ВИЧ-инфицированного реципиента в количестве предпочтительно от 0,5 до 5,0 мл.

При этом для введения можно использовать как приготовленные *ex tempore*, так и замороженные при криогенных
10 температурах и размороженные после хранения суспензии указанных клеток.

Описанный способ оказался весьма эффективен при лечении СПИДа. Во всех случаях его применения следующий за введением эмбриональной клеточной суспензии период может
15 быть разделен на две фазы, которые явно выражены и отмечаются пациентами и лечащими врачами.

Первая фаза представлена первичной реакцией, которая обычно наступает в течение первых суток после введения эмбриональной клеточной суспензии, длится около од-
20 ного месяца, имеет нарастающий или ундулирующий характер, выражается в некотором ослаблении клинических проявлений основного заболевания и улучшении общего состояния, самочувствия и настроения пациентов, что сопровождается подъемом их психической и двигательной активнос-
25 ти, и наиболее демонстративна у пациентов с тяжелым течением заболевания.

Вторая фаза обусловлена проявлением клеточных эффектов, обычно развивается через 1-1,5 месяца после введения эмбриональной клеточной суспензии и заключается в
30 восстановлении нарушенных функций организма реципиента и существенном уменьшении клинических симптомов основного заболевания.

Однако описанный способ, как уже указано, был ориентирован только на лечение СПИДа.

35 Сущность изобретения

Поэтому в основу изобретения была положена задача путем дальнейшего усовершенствования набора эмбриональных клеточных суспензий, полученных преимущественно из

одного человеческого эмбриона, а - с учетом видов заболеваний - и конкретного порядка их введения пациентам создать такой способ лечения людей эмбриональными клеточными суспензиями, который был бы пригоден для клеточной терапии таких внутренних болезней людей, в которых присутствуют: функциональные расстройства, воспалительные и опухолевые процессы, аутоиммунная агрессия, дистрофия и склеротические изменения, сопровождающиеся слабостью, усталостью и соматическими депрессиями - и при лечении которых иные современные методы оказались неэффективны.

Поставленная задача решена тем, что в способе лечения людей эмбриональными клеточными суспензиями, который предусматривает:

15 приготовление суспензии, которая содержит клетки человеческого эмбриона, выбранные из группы, состоящей из гемопоэтических клеток печени, гемопоэтических клеток селезенки и их смеси, и фармацевтически приемлемую жидкую среду и в 1 мл которой присутствуют:

- 20 а) ядродержащие клетки..... $5-200 \times 10^6$,
 б) колониеобразующие единицы гранулоцитов/макрофагов (далее сокращенно - КОЕ ГМ)... $20-200 \times 10^3$,
 в) колониеобразующие единицы гранулоцитов, эритроцитов, моноцитов/макрофагов и мегакариоцитов
25 (далее сокращенно - КОЕ ГЕММ)..... $0,5-10 \times 10^3$ и
 г) ранние предшественники гемопоэза CD_{34+} (далее сокращенно - РПГ CD_{34})..... $1-20 \times 10^6$, -

и по меньшей мере однократное введение такой приготовленной ex tempore или замороженной при криогенных температурах и размороженной после хранения суспензии в организм реципиента, -

согласно изобретению

наряду с указанной основной суспензией из эмбриональных тканей готовят по меньшей мере одну дополнительную суспензию, которая содержит клетки, выбранные из группы, состоящей из стволовых клеток гемопоэза печени, стволовых клеток гемопоэза селезенки, гепатоцитов, тимокитов, эпителиоцитов первичного пищевого канала,

нервных клеток мозга и смесей клеток по меньшей мере двух указанных видов,

и по меньшей мере одну такую дополнительную суспензию вводят в организм пациента наряду с основной суспензией.

Как будет далее показано в примерах, при приготовлении и лечебном применении согласно изобретению по меньшей мере двух суспензий эмбриональных клеток проявляется неожиданный эффект, состоящий в удлинении сроков ремиссии, а в некоторых случаях - и в клиническом выздоровлении некоторых больных, ранее считавшихся неизлечимыми. Удивительно, что существенные улучшения наблюдались при лечении пациентов с запущенными формами таких заболеваний, как рассеянный склероз, первичная дистрофия мозга, недостаточность кровообращения при аортальных пороках сердца, мегаколон, болезнь Крона и некоторых других.

Первое дополнительное отличие состоит в том, что по меньшей мере одну дополнительную суспензию вводят в организм пациента одновременно с основной суспензией. При таком порядке введения синергический эффект проявляется уже на первой фазе клеточной терапии, то есть в период от первых суток до одного месяца после начала лечения.

Второе дополнительное отличие состоит в том, что перед введением в организм пациента по меньшей мере одну дополнительную суспензию объединяют с основной суспензией. Такой порядок введения упрощает манипуляции и сокращает расход времени и вспомогательных материалов.

Третье дополнительное отличие состоит в том, что основную суспензию и дополнительную суспензию вводят в организм пациента последовательно. Такой порядок введения с учетом хода предшествующей клеточной терапии и основанного на полученных предварительных результатах прогноза позволяет выбрать из числа возможных по меньшей мере одну такую дополнительную суспензию, которая даст необходимое усиление и/или закрепление достигнутого лечебного эффекта.

Четвертое дополнительное отличие состоит в том, что

каждую дополнительную суспензию вводят в организм пациента после введения основной суспензии в период, когда лечебный эффект от предшествующих манипуляций обычно достигает максимально возможного уровня. При этом с учетом каждого предшествующего этапа клеточной терапии и основанных на полученных предварительных результатах прогнозов возможно последовательное уточнение выбора дополнительных суспензий для последовательного же усиления и/или закрепления лечебного эффекта.

Пятое дополнительное отличие состоит в том, что основную суспензию вводят в организм пациента после введения дополнительной. Такой обратный порядок введения эмбриональных клеточных суспензий может оказаться полезным в случаях, когда состав дополнительных суспензий может быть достаточно точно связан с подлежащими восстановлению функциями организма реципиента и потому предшествующее введение выбранной дополнительной суспензии может существенно предопределить действие вводимой позднее основной суспензии.

Шестое дополнительное отличие состоит в том, что основные и дополнительные суспензии готовят из тканей одного и того же эмбриона. Это исключает конкуренцию одноклеточных клеток разных эмбрионов в организме реципиента.

Наилучшие варианты осуществления изобретения

Далее сущность изобретения поясняется:

описанием процедур приготовления нативных эмбриональных клеточных суспензий,

описанием процедур криоконсервирования и хранения указанных суспензий и их размораживания перед введением, описанием предпочтительных способов введения клеточных суспензий в организм реципиента,

перечнем показаний и противопоказаний для применения клеточной терапии согласно изобретению,

обобщенным описанием лечебных эффектов, достигаемых при использовании по меньшей мере одной основной и по меньшей мере одной дополнительной эмбриональных клеточных суспензий, и

примерами клеточной терапии трудноизлечимых заболеваний.

Приготовление эмбриональных клеточных суспензий включает:

- 05 а) укладку эмбрионов со сроком 5-14, предпочтительно 5-12 недель гестации, полученных легальным прерыванием беременности у здоровых женщин, в стерильные чашки Петри, заполненные стерильной фармацевтически приемлемой питательной средой, например: стандартным раствором Хэн-
10 кса с добавлением антибиотика преимущественно аминогликозидного ряда, в частности гентамицина в концентрации около 160 мг/л питательной среды, или средой МакКоя 5А, в которую также добавлен антибиотик (обычно смесь пенициллина и стрептомицина) и которая модифицирована добав-
15 ками основных и неосновных аминокислот, пирувата натрия, комплекса витаминов и серино-аспарагино-глутаминовой смеси;

- б) препарирование трупов эмбрионов в стерильном боксе с целью выделения органов, клетки которых будут
20 использованы для суспендирования, а именно:

* печени и селезенки, которые по отдельности или в сочетании используют:

** во всех случаях - для приготовления основной лечебной суспензии гемопоэтических клеток и

- 25 ** в некоторых случаях - для выделения стволовых клеток гемопоэза и (только из печени) гепатоцитов как активных частей по меньшей мере одной дополнительной лечебной суспензии;

- * тимуса, первичного пищевого канала и мозга - так-
30 же для приготовления по меньшей мере одной дополнительной лечебной суспензии, активная часть которой, как уже было указано, содержит клетки, выбранные из группы, состоящей из стволовых клеток гемопоэза печени, стволовых клеток гемопоэза селезенки, гепатоцитов, тимоцитов, эпителиоцитов первичного пищевого канала, нервных клеток
35 мозга и смесей клеток по меньшей мере двух указанных видов, и

* кожно-мышечного лоскута - для приготовления конт-

рольных клеточных суспензий для вирусологических исследований;

в) измельчение и суспендирование выделенных органов общеизвестными специалистами методами и средствами и, при
05 необходимости, селекцию клеток требуемого вида из их общей массы;

г) расфасовку лечебных и контрольных суспензий в стерильные герметизируемые полиэтиленовые контейнеры емкостью от 0,5 до 2,0 мл (в зависимости от дальнейшего
10 назначения) и маркировку контейнеров.

Раствор Хэнкса для приготовления эмбриональных клеточных суспензий должен иметь рН 7,2-7,4. Для установки рН в него добавляют стерильный 1,4% раствор NaHCO_3 , а требуемую величину рН определяют по красно-оранжевому
15 цвету проб при добавлении индикатора "феноловый красный". Срок хранения стерильного раствора Хэнкса до использования при температуре от +4°C до комнатной - 1 месяц.

Аналогично, модифицированная среда МакКоя 5А должна
20 иметь рН 7,0-7,1. В расчете на стандартную упаковку сухой среды МакКоя 5А массой 2,2 г расходуют 8 мл МЕМ-раствора основных и 4 мл МЕМ-раствора неосновных аминокислот, 10 мл МЕМ-раствора пирувата натрия и 4 мл МЕМ-раствора витаминов, 420 мг L-серина, 800 мг L-аспарагина и 200 мг L-глутамина.
25

Для последующего лечебного применения готовят следующие эмбриональные клеточные суспензии:

а) две основные, а именно:

№.1 - суспензию гемопоэтических клеток печени;

30 №.2 - суспензию гемопоэтических клеток селезенки и

б) шесть дополнительных, а именно:

№.3 - суспензию стволовых клеток гемопоэза печени;

№.4 - суспензию стволовых клеток гемопоэза селезенки;

35 №.5 - суспензию гепатоцитов;

№.6 - суспензию тимоцитов;

№.7 - суспензию эпителиоцитов первичного пищевого канала и

№.8 - суспензию нервных клеток мозга.

В качестве дисперсионной среды предпочтительны:
для суспензий Nos.1,2,6,7,8 - раствор Хэнкса, а
для суспензий Nos.3,4,5 - среда МакКоя 5А.

05 Суспензии Nos.1,2,6,7,8 приготавливали в гомогенизаторах из соответствующих эмбриональных тканей с последующим пропусканием через стандартный фильтр для переливания препаратов крови и иглы уменьшающегося диаметра, а
клеточный материал для приготовления суспензий Nos.3,4,5
10 выделяли многократным центрифугированием и отбором супернатанта.

Указанные суспензии могут быть использованы в нативном виде не позднее 6-8 часов от момента получения эмбриона при условии хранения до введения реципиенту при
15 температуре +5-7°С.

Однако предпочтительно использование криоконсервированных эмбриональных клеточных суспензий, поскольку, согласно нашему опыту и данным иных исследователей (см., например, Ek S., Ringden O., Markling L., Westgren M.
20 Cryopreservation of fetal stem Cells. Bone Marrow transplantation, 11 Suppl, 1:123, 1993), они практически не отличаются от нативных по составу и клинической эффективности, но гораздо удобнее с точки зрения подбора реципиентов и сроков использования. В способе согласно
25 изобретению возможно лишь однократное использование нативных суспензий в первом лечебном сеансе.

Для контроля клеточных суспензий, приготовленных из каждого эмбриона, обязательно использовали:

один контейнер емкостью 0,5 мл - для тестирования
30 функциональной состоятельности каждой лечебной клеточной суспензии после размораживания;

три контейнера емкостью до 2,0 мл, содержащие по 1,0-1,5 мл контрольной клеточной суспензии из кожного-мышечного лоскута - для вирусологического контроля (в том
35 числе: первый - для выявления возбудителей опасных вирусов в лаборатории учреждения-изготовителя клеточной суспензии, второй - для такого же параллельного исследования в государственной контролирующей лаборатории и тре-

тий - для хранения в криобанке и последующего подтверждения безопасности использованного эмбрионального материала в спорных случаях);

05 два контейнера емкостью до 2,0 мл, содержащие по 1,0-1,5 мл смывных вод с лабораторной посуды и инструментов - для исследования бактериальной стерильности (в том числе: первый - для исследования в лаборатории учреждения-изготовителя, а второй - в государственной контрольной лаборатории).

10 Указанные меры контроля в сочетании с диагностикой доноров эмбрионов на сифилис, ВИЧ-инфекцию, вирусные гепатиты В и С, токсоплазмоз и цитомегаловирус, с фетальной диагностикой на ВИЧ-инфекцию, вирусные гепатиты В и С, токсоплазмоз, цитомегаловирус, вирусы рубеллы и гер-
15 песа и с повторной диагностикой доноров на ВИЧ-инфекцию через 90-100 суток после аборта обеспечивают безопасность клеточной терапии согласно изобретению.

При выявлении возбудителей инфекционных заболеваний в лаборатории учреждения-изготовителя эмбриональной кле-
20 точной суспензии весь материал соответствующего эмбриона вместе с контейнерами уничтожали сжиганием.

Перед применением в клинике в лечебных эмбриональ-
ных клеточных суспензиях известными специалистами метода-
ми определяли концентрацию в 1 мл ядросодержащих клеток,
25 КОЕ ГМ, КОЕ ГЕММ и РПГ CD₃₄. Это определение в полном объеме обязательно для криоконсервированных клеточных суспензий Nos.1, 2, 3 и 4, а в прочих суспензиях и в нативных суспензиях Nos.1, 2, 3 и 4, если они приготовлены по выше описанной стандартной методике, допустимо опре-
30 деление только концентрации ядросодержащих клеток.

Требуемые концентрации определяли:

для ядросодержащих клеток - клеточным анализатором или визуально под микроскопом в счетной камере;

для КОЕ ГМ и для КОЕ ГЕММ - методами клонирования
35 КОЕ в метилцеллюлозе (см. Hann V., Bodger M., Hoffbrand a. Development of pluripotent hematopoietic progenitor cells in the human fetus//Blood, 1983, Vol.62, No.4, pp.118-123);

для РПГ CD_{34} - косвенным иммунофлуоресцентным тестом с использованием моноклональных антител в проточном цитофлуориметре.

Криоконсервирование эмбриональных клеточных суспензий проводили в три этапа аналогично тому, как описано в статье Федотенкова А.Г. и др. "Криоконсервирование костного мозга при низких температурах для клинических целей" (*Проблемы гематологии*, 1966, т.10, No.2, с.45-50), используя как криопротектор стерильный диметилсульфоксид (ДМСО) в конечной концентрации 3-10% от массы клеточной суспензии.

Контейнеры с подлежащими замораживанию эмбриональными клеточными суспензиями вертикально устанавливали в камере программного морозильника и замораживали:

- а) от комнатной температуры до -4°C со скоростью $1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$;
- б) от -4 до -10°C - со скоростью $0,1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$;
- в) от -10 до -196°C - со скоростью $7^{\circ}\text{C}/\text{мин}$.

Срок хранения контейнеров с эмбриональными клеточными суспензиями в жидком азоте практически не ограничен.

Эмбриональные клеточные суспензии из криобанка размораживали перед применением в два этапа:

вначале быстро - в водяной бане с температурой 40°C до появления подвижной центральной льдинки в контейнере, затем медленно - на воздухе при комнатной температуре, пока льдинка в контейнере не исчезала.

Размороженные клеточные суспензии можно хранить перед введением при комнатной температуре не более двух часов.

Следует отметить, что удаление ДМСО из размороженных клеточных суспензий не требуется, ибо его доза даже при максимальном (около 8 мл) однократно вводимом объеме существенно ниже допустимой по соображениям безопасности. Более того, ДМСО способствует повышению эффективности клеточной терапии как проводник присутствующих в клеточных суспензиях биологически активных веществ через биологические барьеры и мембраны.

Лечебные клеточные суспензии могут быть введены в организм реципиента разными путями.

Предпочтительно, особенно для основных суспензий Nos. 1 и 2, внутривенное введение вместе со взятым в объеме около 100 мл изотоническим раствором со скоростью 20-40 капель в минуту.

Возможно, особенно при лечении детей, струйное внутрибрюшинное введение клеточных суспензий, разбавленных изотоническим раствором до объема около 50 мл.

В случаях, когда у больных отмечены свежие тромбы, гемоофтальмопатия или гиперспленизм, наиболее целесообразно внутрикостное (предпочтительно в грудину) струйное введение клеточных суспензий, разбавленных изотоническим раствором до объема около 50 мл.

Нередко целесообразно подкожное введение предпочтительно дополнительных суспензий Nos. 3-8.

И, наконец, не исключено создание депо эмбриональных клеток в полостях и фасциях организма-реципиента.

Объемы единовременно вводимых доз лечебных суспензий могут быть выбраны в пределах от около 0,5 до около 8,0 мл, предпочтительно до 5,0 мл. Однако следует иметь в виду:

что увеличение доз не связано напрямую ни с выраженностью, ни со стойкостью лечебного эффекта, поэтому большие (5-8 мл) дозы показаны лишь в случаях, когда вводимые эмбриональные клетки должны обеспечить как можно большую выраженность первой фазы клеточной терапии.

что применение доз менее 0,5 мл технически затруднительно, поскольку часть клеток всегда остается во флаконе, трубках, иглах и т.д., и

что - с учетом сказанного выше - в одной процедуре клеточной терапии обычно достаточно ввести по 0,5-2,0 мл основной и дополнительной клеточных суспензий.

При повторении процедур клеточной терапии на последующих этапах лечения пациента предпочтительно использование клеточных суспензий из того же эмбриона, что был использован в первом сеансе. Именно поэтому приготовленные суспензии разливают в несколько контейнеров.

Показаниями для клеточной терапии согласно изобретению обычно, хотя и не исключительно, служат:

болезни, протекающие с выраженными нарушениями системы крови;

05 опухолевые болезни, с целью:

* начала лечения, связанного с удалением опухоли, при осложненном течении рака (анемии, повышенной температуре, истощении, сопутствующих инфекциях и некоторых других),

10 * проведения курсов химио- и лучевой терапии и
* формирования противоопухолевого иммунитета в фазе ремиссии;

болезни, завершающиеся развитием соединительной ткани (склерозированием);

15 болезни, в основе которых лежит воспалительный процесс;

болезни, при течении которых возникают язвенные дефекты и эрозии;

болезни, протекающие на фоне хронических инфекций;

20 болезни, основным проявлением которых служит дистрофический процесс;

болезни, в основе которых лежат функциональные расстройства в виде несогласованной, несвоевременной, дистонической работы частей органов и систем органов;

25 аутоиммунные и аллергические поражения;

резистентность к лекарственным препаратам, которые жизненно необходимы для пациентов и

неэффективность общепринятых методов лечения.

30 Клеточная терапия согласно изобретению противопоказана:

при резко выраженной гипертензии малого круга с развитием острого или подострого *cor pulmonale*;

при миелокарцинозе,

35 при терминальных стадиях преимущественно онкологических заболеваний, на которых явно выражены глубокая интоксикация, глубокие расстройства обмена веществ и тяжелая общая декомпенсация, и

при острых васкулитах, капилляритах, флебитах, ар-

териитах и тромбозах.

Однако по истечении примерно трех месяцев ремиссии после активного лечения острых васкулитов, капилляритов, флебитов, артериитов и тромбозов клеточная терапия согласно изобретению вполне возможна. Естественно также, что до начала клеточной терапии целесообразна санация очагов хронической инфекции.

Основные лечебные эффекты, достигаемые клеточной терапией согласно изобретению, заключаются в следующем:

восстановление таких показателей иммунитета, как общее количество лимфоцитов, включая субпопуляции лимфоцитов Т3, Т4 и Т8, NK-клеток и В-лимфоцитов, и нормализация их соотношения, снятие явлений аутоиммунной агрессии и иммуносупрессии и, как следствие, восстановление противоопухолевого и противoinфекционного иммунитета;

восстановление таких показателей крови, как количество лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов;

уменьшение явлений кровоточивости;

нормализация функциональной активности частей органов и систем органов;

восстановление утраченных функций тканей и органов;

уменьшение проявлений развития соединительной ткани;

улучшение трофики органов, улучшение микроциркуляции, достижение полнокровия тканей и органов;

усиление процессов репарации, проявляющееся в заживлении язвенных и эрозивных дефектов;

улучшение психоэмоционального состояния пациентов, и укрепление воли к выздоровлению, устранение тревоги и страхов;

уменьшение проявлений интоксикации: слабости, потливости, снижения работоспособности, нарушений сна и аппетита;

обезболивающее действие и

восстановление чувствительности к лекарственным препаратам.

Приведенные далее примеры поясняют способ совместного применения по меньшей мере одной основной и по

меньшей мере одной дополнительной лечебных суспензий и достигаемые при этом синергические эффекты. Однако очевидно, что эти примеры не исчерпывают всех возможных применений и лечебных эффектов, которые могут быть достигнуты.

Пример 1

Пациент А., 1944 г.р., поступил в клинику клеточной терапии 10.05.94 г. с диагнозом: Недостаточность аортального клапана. Последствия ушиба грудной клетки и ушиба сердца (декабрь 1990 года, автокатастрофа). Недостаточность кровообращения по смешанному типу. ФК 3. Отек легких (11 апреля 1994 года). Атрофический стоматит. Глоссит. Гингивит.

Пациент считал себя больным с 1992 года, когда появились первые признаки формирования порока в результате травмы грудной клетки и сердца: появилось вздрагивание головы, снизилось диастолическое артериальное давление, стал ощущать сердцебиение. В 1993 году предлагалось оперативное лечение, от которого пациент отказался по религиозным мотивам. С 1994 года постоянно принимает лекарственные препараты: сердечные гликозиды, мочегонные препараты, ингибиторы ангиотензин-превращающего фактора. 11 апреля 1994 г. вечером начался отек легких, который был купирован врачами скорой помощи. Пациент был помещен в палату интенсивной терапии городского кардиологического центра. Позже он лечился в кардиологическом отделении. Несмотря на проводимую терапию пациента беспокоят одышка при незначительной нагрузке, с усилением в ночное время, отек нижних конечностей, сердцебиение, боли и тяжесть в правом подреберье; кроме того боли во рту, сухость, невозможность жевать пищу. Угнетен своим состоянием.

Объективно: мужчина, рост 182 см, вес 90 кг, кожные покровы бледные, видимые слизистой цианотичны. На шее видна пульсация сонных артерий, отмечается пульсация в яремной ямке. Имеет место синхронное вздрагивание головы и капиллярный пульс. Пульс 88 уд/мин, ритмичный, артериальное давление 140/30 мм рт.ст. Усиленный и разлитой

верхушечный толчок в шестом межреберье по передней сред-
неподмышечной линии. При перкуссии границы относительной
и абсолютной тупости сердца значительно смещены влево.
При аускультации типичная мелодия для недостаточности
05 аортального клапана. Первый тон приглушен, второй тон
резко ослаблен, мягкий, дующий диастолический шум. Са-
мостоятельный систолический шум на верхушке сердца.

Над легкими ясный перкуторный звук, ослабленный в
нижних сегментах обоих легких. В легких ослабленное ве-
10 зикалярное дыхание. Единичные сухие хрипы. В нижних от-
делах легких крепитация. Живот мягкий болезненный в пра-
вом подреберье, печень на 10-12 см выходит из-под края
реберной дуги, край ее острый, болезненный. Отрезки ки-
шок обычной позиции и свойств. Выраженные плотные отеки
15 стопы, голеней и мошонки.

При осмотре ротовой полости выявлена "лаковость"
слизистых, они истончены, гиперемированы, имеется нес-
колько трещин, покрытых фибрином, десна кровоточат,
отечны и гиперемированы, язык гладкий, сосочки отсутс-
20 твуют, незначительные по размерам эрозии вдоль края язы-
ка на месте отпечатков зубов. Имеются заеды.

Диагноз подтвержден рентгенологическим и ультразву-
ковым исследованием органов грудной клетки, сердца и
крупных сосудов.

25 Необходимо отметить резистентность пациента к сер-
дечным гликозидам и салуретикам. Несмотря на калийсодер-
жащую диету и проводимое лечение уменьшить проявления
недостаточности кровообращения не удалось. Суточный диу-
рез оставался менее 700 мл в сутки. Положительный диурез
30 отсутствовал.

12.05.94 г. пациенту ввели:

а) внутривенно - 2,0 мл суспензии No.2 (образец
S-214L; количество клеток 100×10^6 /мл, КОЕ ГМ 82×10^3 /мл,
КОЕ ГЕММ $3,2 \times 10^3$ и РПГ CD₃₄ 8×10^6);

35 б) подкожно - 1,5 мл суспензии No.5 (S-214H, коли-
чество клеток $8,4 \times 10^6$ /мл) и 1,5 мл суспензии No.7 (обра-
зец S-214E, количество клеток 43×10^5 /мл) соответственно
в два верхних и в два нижних квадранта передней стенки

живота.

Пациент к вечеру отметил усиление диуреза и уменьшение одышки в покое. Ночь спал спокойно впервые за несколько месяцев. Утром был бодр, уменьшилась одышка, отмечил исчезновение болей во рту и правом подреберье. Мочился в течение дня часто. Суточный диурез – 2,5 л. В течение недели сошли отеки с нижних конечностей, уменьшилась в размерах печень. Край ее стал пальпироваться на 3–4 см ниже реберной дуги, безболезненно. В легких появилось везикулярное дыхание, исчезло притупление в нижних сегментах. АД возросло до 170/20 мм. рт.ст. Значительно уменьшилась одышка при ходьбе. Ночью стал спать спокойно без удушья. Во рту исчезла болезненность при жевании пищи, исчезли заеды, уменьшилась кровоточивость десен. Вновь стал чистить зубы.

Были вновь подобраны дозы препарата наперстянки и салуретика. Ежедневно отмечал положительный диурез. Выписан из клиники 22 мая 1994 г..

Во время контрольных осмотров 1 раз в 2 месяца отмечено, что пациент увеличил нагрузки в течение дня, стал выходить из дома за покупками, убирать в доме, его настроение стало ровным. Появился оптимизм, он стал пунктуально выполнять назначения врача, старательно ограничивал прием соли и жидкости. Видимые отеки отсутствовали. Край печени на 2 см выходил из-под края реберной дуги. Слизистые ротовой полости через 3 месяца стали бархатистыми; эрозии, трещины и кровоточивость не беспокоили. Восстановилась слизистая языка. Дозы наперстянки и салуретиков были снижены на 50%.

При ультразвуковом исследовании сердца 10.10.94 г. отмечено увеличение сократительной способности миокарда на 37%.

Пациент был под наблюдением в клинике в течение 1994–1996 гг. Он получил аналогичную терапию эмбриональными клеточными суспензиями в сентябре 1996 года. В 1997 году поменял страну жительства.

Пример 2

Больной П., 1981 г.р., поступил в клинику клеточной

терапии 16 ноября 1994 г. с диагнозом: приобретенная гипопластическая анемия. При поступлении беспокоили головная боль, головокружение, сердцебиение, одышка при незначительной нагрузке, плохой аппетит, выраженная слабость и геморрагическая сыпь преимущественно по латеральным поверхностям конечностей.

Болеет в течение 2-х месяцев, получал кортикостероидную терапию - преднизолон в дозе 60 мг в сутки без положительного эффекта. Проводилось переливание эритроцитарной массы до 800 мл в неделю.

При осмотре: больной с избыточным весом с диспластическим отложением жира в типичных местах как при синдроме Иценко-Кушинга. Кожа бледная, на коже голени обильная пятнисто-петехиальная сыпь. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Пульс 104 уд./мин, ритмичный, удовлетворительного наполнения и напряжения. АД 110/70 мм рт.ст. Границы относительной тупости сердца в пределах нормы. Тоны сердца обычные, на верхушке выслушивается систолический шум. Над легкими ясный перкуторный звук. Дыхание везикулярное. При пальпации живот мягкий, безболезненный. Нижний край печени выступает из-под края реберной дуги по правой среднеключичной линии на 2 см. Селезенка не пальпируется.

Проведены в полном объеме и динамике общеклинические лабораторные и инструментальные исследования. Были сделаны анализы крови и, для уточнения диагноза, стернальная пункция 18.11.94 г. (таблицы 2.1 и 2.2).

Миелограмма характеризовалась резким угнетением миелоидного и эритроидного ростков и практическим отсутствием клеток мегакариоцитарного ростка.

Диагноз: приобретенная апластическая анемия.

20.11.94 г. пациенту внутривенно капельно ввели 2,5 мл суспензии No.3 (образец С-861SH; количество клеток $42 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГМ $31 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ $26 \cdot 10^3$ /мл, РПГ $29 \cdot 10^3$ /мл).

Через 8-12 часов после введения больной отмечал улучшение общего самочувствия, появление аппетита, уменьшение слабости, головной боли. Температура тела не

повышалась. На первые сутки после введения наблюдали незначительное повышение уровня эритроцитов, гемоглобина, на 7-е сутки - повышение уровня лейкоцитов (таблица 2.1). Количество тромбоцитов не возросло. В миелограмме на 9-е сутки после первой трансплантации отмечено незначительное увеличение всех ростков кроветворения. Начиная с третьей недели после введения суспензии No.3, показатели периферической крови начали снижаться (см. таблицу 2.1).

10 Было повторено внутривенное капельное введение той же суспензии No.3 в объеме 1,4 мл. Дополнительно были введены:

также внутривенно капельно - 2,0 мл суспензии No.4 (образец C-861SL; количество клеток $18 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГМ 15 $10,2 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ $12 \cdot 10^3$ /мл и РПГ CD_{34} $5,6 \cdot 10^3$ /мл);

подкожно в две точки в переднюю стенку живота - по 1,5 мл в каждую суспензии No.1 (образец C-861; количество клеток $124 \cdot 10^6$ /мл, КОЕ ГМ $52 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ $4,0 \cdot 10^3$ /мл и РПГ CD_{34} $2,34 \cdot 10^6$ /мл);

20 также внутривенно капельно - 2,0 мл суспензии No.6 (образец C-861T; количество клеток $74 \cdot 10^4$ /мл). На третьи

сутки после второго введения наблюдали снижение уровня эритроцитов до $1,5 \cdot 10^{12}$ /л. Увеличение в дальнейшем количества форменных элементов крови различных ростков сопровождалось клиническим улучшением состояния больного: отсутствовали свежие высыпания на коже, уменьшились явления интоксикации (слабость, потливость), появился аппетит. Активно уменьшалась доза глюкокортикоидов, переливания компонентов крови не проводили. Значительное увеличение количества тромбоцитов в периферической крови отмечено на 7-е сутки, а в дальнейшем наблюдалась тенденция их роста вплоть до нормализации количества. Увеличение количества лейкоцитов в периферической крови выявлено с 30-х суток после второго введения с 35 тенденцией в дальнейшем к постоянному увеличению. Количество эритроцитов восстанавливалось значительно медленнее. В течение 50-60 дней показатели эритроцитов находились в пределах $2,5-3,0 \cdot 10^{12}$ /л, гемоглобина - 75-90 г/л.

Нарастание клеток красной крови с тенденцией к полной нормализации наблюдались на 3-4-й месяц после второго введения.

Подсчитанные на 15 и 34-е сутки после второго введения миелограммы свидетельствовали об улучшении кроветворения всех ростков костного мозга, включая мегакариоцитарный (см. таблицу 2.2).

Наблюдение продолжается и в настоящее время.

Пример 3

10 Пациент Д.М., 1936 г.р., адвокат, находился на лечении в клинике клеточной терапии с 16.05.96 г. по 20.05.96 г.

Со слов дочери отец заболел в марте 1994 г. Члены семьи и сотрудники стали отмечать неадекватные ответы 15 пациента, он стал плохо готовить документы, изменился почерк, не мог более свободно вступать в дискуссии, ясно излагать свои мысли. Пациент начал терять память на ближайшие события, стал вялым, удрученным и эмоционально инертным, появился фиксированный взгляд.

20 С 1994 г. был в основном под наблюдением психиатров. В 1996 г. явления усилились в виде путаной, скадированной речи, не мог более писать, поставить подпись под документом, появились периоды отключения на десятки минут, после которых пациент не ориентировался в окружающей 25 действительности. Часто засыпал днем в кресле.

В апреле 1996 г. в Harbor/UCLA Diagnostic Imaging Centre и в госпитале "Good Samaritan" методами исследования мозгового кровотока радиоактивным Xe^{133} и компьютерной томографией был диагностирован атрофический процесс в орбитофронтальной, дорзофронтальной, височной 30 областях левой доли головного мозга и в правой доле мозжечка.

В последний месяц пациент стал падать при преодолении небольшого препятствия типа порога и даже без причины. Походка стала дискоординированной, шаткой. Принимал 35 пирацетам в дозе 1,2 г в сутки и диазепам на ночь 10 мг.

В момент осмотра: бледный, высокий, атлетической конституции мужчина с маскообразным лицом, односложно

отвечающий на вопросы. Часто отвечает не попадая или меняет свой ответ и тему разговора. Кожные покровы чистые. Лимфатические узлы не увеличены. Пульс 66 уд./мин. АД 130/80 мм рт.ст., частота дыхания 16 в 1 минуту. Со стороны внутренних органов отклонений не выявлено.

Обследован 16.05.96 г. Результаты общего анализа крови и иммунологического исследования крови приведены соответственно в таблицах 3.1 и 3.2. Биохимический анализ крови от 16.5.96 г.: билирубин общий - 14,0 ммоль/л, прямой - отрицательный, не прямой - 14,0 ммоль/л, тимоловая проба - 2,0 ед., АЛТ - 0,31 ммоль/л, АСТ - 0,22 ммоль/л, холестерин - 3,3 ммоль/л, креатинин - 0,135 ммоль/л, мочевины - 12,5 ммоль/л, общий белок - 76,3 г/л, альбумины 54,1%, глобулины - 45,9% (в том числе: альфа1 - 5,0%, альфа2 - 9,9%, бета - 13,7% и гамма-глобулин - 17,3%), серомукоид - 0,185 ед.

16.05.96 г. ЭКГ: Ритм синусовый, правильный. Признаки умеренных изменений миокарда.

18.05.96 г. Осмотрен окулистом. Заключение: Передний отрезок не изменен. Оптические среды в проходящем свете прозрачные. На глазном дне: диски зрительных нервов контурированы, бледно-розовые. Артерии сужены, склерозированы. Кольца перипапиллярной атрофии хориоидеи. В макулярных зонах очаговой патологии не выявлено. Диагноз: Миопия средней степени, ангиосклероз сетчатки обоих глаз.

18.05.96 г. Осмотрен невропатологом. Заключение: жалобы на изменение интеллекта, мышления, проявляющиеся при функциональной деятельности, периодически - динамическая атаксия. Болеет около 4-х лет. Выглядит старше своих лет. В семейном анамнезе: *cancer* толстого кишечника у отца, психических заболеваний не было. В неврологическом статусе: глазные щели, зрачки d=s, движение глазных яблок в полном объеме. Ну - нет, сглажена левая носогубная складка, язык - по средней линии. Глотание свободное. Активные движения в полном объеме, сила достаточная, мышечный тонус не изменен, рефлексы средней живости, d=s, с 2-х сторон - симптом Штрюмпеля.

Неловкость при выполнении координаторных проб слева, в сенсibiliзированной пробе Ромберга - падает влево. Болевая чувствительность сохранена. Нерезко выраженный адиадохокинез слева, асинергии Бабинского отсутствуют.

05 Таким образом, у больного имеется симптоматика поражения образований мозга слева. Необходимо проведение дифференциальной диагностики между (+) процессом и идиопатической атрофией мозга. Целесообразно проведение контрастной ангиографии, исследование глазного дна - в динамике.

10 Диагноз: Идиопатическая энцефалопатия, инволюция левой части лобной доли, передней части височной доли и правого полушария мозжечка, начальные проявления деменции, атаксия.

16.05.96 г. пациенту внутривенно капельно ввели 1,0
15 мл суспензии No.1, (образец 3038AP284; (количество клеток $189 \cdot 10^6$ /мл, КОЕ ГМ $42 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ $7,6 \cdot 10^3$ /мл, РПГ CD₃₄ $3,2 \cdot 10^6$ /мл).

Все окружающие отметили, что к вечеру пациент стал живее: смеялся, долго смотрел телевизор и был увлечен
20 передачей, чего давно не было. Принял 2 таблетки диазепама. Спал всю ночь. Утром был оживлен, хорошо поел за завтраком. Разговаривал с дочерью весь день.

17.05.96 г. пациенту подкожно в переднюю стенку живота в две точки по 1,5 мл в каждую ввели суспензию No.8
25 (образец 3038AM284; количество клеток $64 \cdot 10^6$ /мл).

18.05.96 г. пациенту повторно внутривенно капельно ввели 4.0 мл такой же, как и в первом случае, суспензии No.1 и дополнительно - подкожно в переднюю стенку живота в две точки по 1,5 мл в каждую ввели той же самой суспензии No.8.
30

19 и 20.05.96 г. пациент стал лучше ходить, исчезла шаткость походки, стал выполнять пробу Ромберга, ни разу не упал. Он стал живее, разговорчивее, на лице появилась мимика. Усилился аппетит. Смог подписать финансовый документ.
35 Рекомендовано провести курс лечения кавинтоном (Vinprocetinum) по 1 таблетке 3 раза в день в течение 2-х месяцев и посетить клинику в июле 1996 года.

Пациент Д.М., сопровождаемый сыном, вновь находился

на лечении в клинике клеточной терапии с 01.07. по 05.07.96 г.

Диагноз прежний: идиопатическая энцефалопатия, инволюция левой части лобной доли, передней части височной 05 доли и правого полушария мозжечка, начальные проявления деменции, атаксия.

При расспросе установлено, что пациент возвратился к обычной жизни. Выполняет работу для своего офиса, но публично не выступает. Занимается физической зарядкой, 10 бегом, плаванием, стал водить машину. Начал отрицать факт своей прежней болезни.

При осмотре: живой, активный, атлетического типа мужчина. Адекватно отвечает на вопросы, но осталась инертность в ответе, нечеткость ряда звуков, некоторая 15 скадированность речи. Пишет, но почерк изменен.

Повторно обследован 01.07.96 г. Результаты общего анализа крови и иммунологического исследования крови приведены соответственно таблицах 3.1 и 3.2. Биохимический анализ крови: билирубин общий - 15,0 ммоль/л, прямой 20 - отрицательный, непрямой - 15,0 ммоль/л; тимоловая проба - 2,5 ед., АЛТ - 0,45 ммоль/л, АСТ - 0,24 ммоль/л, холестерин - 6,0 ммоль/л, креатинин - 0,130 ммоль/л, мочевина - 12,58 ммоль/л, общий белок - 80,6 г/л.

01.07.96 г. ЭКГ: Ритм синусовый, правильный. Приз- 25 наки умеренных изменений миокарда.

Учитывая эффективность предшествующего лечения, был рекомендован повторный курс клеточной терапии.

01.07.96 пациенту внутривенно капельно ввели 3,0 мл суспензии No.4, (образец 3038ALS284; количество клеток 30 24×10^3 /мл, КОЕ ГМ 19×10^3 /мл, КОЕ ГЕММ 12.6×10^3 /мл, РПГ CD_{34} 7.1×10^3 /мл),

02.07.96 г. осмотрен невропатологом. Заключение: со слов окружающих состояние больного улучшилось, жалоб в момент осмотра не предъявляет. При осмотре: очаговых органических изменений со стороны нервной системы не выяв- 35 лен: устойчив в позе Ромберга, отсутствует адиадохокинез. Походка - без особенностей, синкинезии рук при ходьбе достаточные.

02.07.96 г. пациенту дополнительно ввели 3,0 мл суспензии №.8 в подкожно в переднюю стенку живота в две точки по 1,5 мл в каждую (образец 3038AM284, количество клеток - $64 \cdot 10^6$ /мл).

05 После лечения пациент вновь отметил повышение физической активности и улучшение самочувствия.

Пациент в дальнейшем связывался с врачами клиники и информировал о своем благополучном состоянии. В 1997 г. он участвовал в марафонском забеге в Лос-Анжелесе.

10 Пример 4

Пациент Д.С., 1959 г.р., адвокат, находился на лечении в клинике клеточной терапии с 06.10.96 г. по 11.10.96 г.

15 Считает себя больным с 1993 г. В начале года в течение 15 дней исчезла, а затем спонтанно восстановилась чувствительность ряда пальцев на руке. В июле 1993 г. после перенесенной респираторной инфекции почувствовал слабость в ногах, шаткость в походке, нарушение координации движений, были подъемы температуры. При осмотре и
20 обследовании в госпитале причины не были обнаружены. Лечение гидрокортизоном было успешным, симптомы болезни исчезли.

В феврале 1994 г. вновь появилась слабость в ногах, трудности при ходьбе, отмечались подъемы температуры и
25 увеличение количества лейкоцитов в крови до 12 Г/л. Был обследован на СПИД, консультирован многими специалистами. В марте 1994 г. при сканировании мозга в госпитале "Принцесса Грасс" в Монако были обнаружены очаги дегенерации в различных отделах мозга.

30 Был поставлен диагноз: рассеянный склероз.

Лечился: глюкокортикоидами, интерфероном. С конца 1994 г. пользуется инвалидным креслом. Выраженный гипертонус верхних и нижних конечностей. Не может себя обслуживать. Ограничен в работе, периодически не может дер-
35 жать ручку в руках, не может печатать, жалуется на выраженную общую слабость. Ограничен в контактах с окружающими. Появились проблемы с мочеиспусканием. Половая жизнь невозможна.

Объективно: мужчина, сидящий в инвалидной коляске, приятной внешности. С трудом подает руку для приветствия, почти ее не сжимает. Для осмотра с помощью окружающих после фиксации нижних конечностей в состоянии гипертонуса перенесен в кровать. Раздет медицинским персоналом. Кожные покровы бледные, чистые, удовлетворительного питания. На левой руке два пальца плохо сформированы от рождения. Косоглазие (коррекция операцией в 12 лет). Со стороны внутренних органов, сердца, легких, желудочно-кишечного тракта, печени, почек изменения при физикальном исследовании не выявлены. Отечность отсутствует. Пульс 72 уд./мин. АД 120/70 мм рт.ст, симметричное, частота дыхания 18 в 1 минуту.

Установлен диагноз: рассеянный склероз, цереброспинальная форма с тетрапарезом, d>s, преимущественно выраженным в ногах. Расходящееся содружественное косоглазие OS. Среднекалиберный нистагм. Гиперметропический астигматизм. Ангиопатия сетчатки. Начальная макулодистрофия обоих глаз.

20 Обследован 07.10.96 г.

Результаты общего анализа крови см. в таблице 4.1. Иммунологические показатели крови от 07.10.96 г. приведены в таблице 4.2.

Биохимический анализ крови: билирубин общий - 17,6 мкмоль/л, прямой - отрицательный, непрямой - 17,6 мкмоль/л; тимоловая проба - 4,3 ед., АЛТ - 0,32 мкмоль/л, АСТ - 0,21 мкмоль/л, холестерин - 5,4 мкмоль/л, креатинин - 0,065 мкмоль/л, мочевины - 0,62 мкмоль/л, общий белок - 74,2 г/л. Сахар крови - 4,6 мммоль/л.

30 Анализ мочи общий: объем - 180,0 мл, соломенного цвета, прозрачная, кислая, сахар - нет, белок - нет, эпителий плоский - в небольшом количестве, лейкоциты - 2-3 в поле зрения, относительная плотность 1018, слизь в умеренном количестве, оксалаты в небольшом количестве.

35 ЭКГ: ритм синусовый, правильный. Нормальное положение электрической оси сердца. Дистрофические изменения миокарда.

Осмотрен невропатологом. Заключение: жалобы на не-

возможность ходьбы - ноги "тяжелые", "скованные", может
стоять только с посторонней помощью из-за атаксии и сла-
бости в ногах. Жалуется также на нарушение зрения - зат-
руднена конвергенция, из-за чего возникает двоение (ле-
05 вый глаз при фиксации взора отплывает кнаружи). Болеет
4-й год. В неврологическом статусе - контактен, ориенти-
рован, расходящийся стробизм за счет левого глаза. Зрач-
ки $d=s$, фотореакции вялые. Среднеразмашистый горизон-
тальный нистагм при взгляде в стороны, $s>d$. Лицо симмет-
10 рично, язык - по средней линии, глоточный рефлекс сохра-
нен. Ограничен объем активных движений в руках и ногах,
тонус в руках повышен незначительно, в ногах - выражен-
ная спастика, рефлексы повышены, $d>s$, клонус стоп $d>s$, с
двух сторон - симптом "веера". Болевая чувствительность
15 сохранена, координаторные пробы выполняет удовлетвори-
тельно. По результатам ЯМР-исследования головного мозга:
множественные очаги поражения ("бляшки") в стволе голов-
ного мозга (мозжечок и другие отделы), corpus callosum.

К обследованию: осмотр окулиста - глазное дно,
20 visus, поля зрения.

10.10.96 г. Анализ мочи общий: объем - 70,0 мл, со-
ломенного цвета, прозрачная, кислая, сахар - нет, белок
- нет, эпителий плоский - в небольшом количестве, лейко-
циты - 1-3 в поле зрения, относительная плотность -
25 1018.

11.10.96 г. Сахар крови - 3,3 ммоль/л.

11.10.96 г. Окулист: при ориентировочной проверке
visus в очках $>0,6$. Рефракция: Гиперметропический астиг-
матизм. Подвижность глазных яблок в полном объеме. Рас-
30 ходящееся косоглазие OS (10-15 градусов по Гиршбергу).
Среднекалиберный горизонтальный нистагм при взгляде в
сторону. Реакция зрачков на свет живая. Передний отрезок
- без патологии. Оптические среды прозрачные. На глазном
дне: диски зрительного нерва контурированы, бледно-розо-
35 вые. Артерии сужены. Артерии/вены = 1/3. Вены извиты.
Единичные дистрофические очажки в макулярной зоне и
центральных зонах сетчатки.

Диагноз: Расходящееся содружественное косоглазие

OS. Среднекалиберный нистагм. Гиперметропический астигматизм. Ангиопатия сетчатки. Начальная макулодистрофия обоих глаз.

07.10.96 г. пациенту внутривенно капельно ввели 2,0
05 мл суспензии No.1 (образец 3038AP118; количество клеток $184 \cdot 10^6$ /мл, КОЕ ГМ $68 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ $4,3 \cdot 10^3$ /мл, РПГ CD_{34} $7,2 \cdot 10^6$ /мл) и дополнительно в подкожную клетчатку передней брюшной стенки в две точки ввели по 0,7 мл, суспензии No.8 (образец 3038AM118, количество клеток
10 $89 \cdot 10^6$ /мл).

Пациент отметил, что через несколько часов уменьшился тонус в конечностях, движения стали более координированными. Ночью он несколько раз самостоятельно пытался встать, и это ему удавалось. Утром он был окрылен.
15 Чувствовал силу в теле, отметил, что лучше держит руками предметы. Демонстрировал, что может закинуть ногу за ногу, сидя в кресле. Отметил улучшение аппетита. Отметил также, что лучше удерживает мочу перед мочеиспусканием. Звонил в свою страну, номер телефона набирал самосто-
20 тельно.

09.10.96 г. пациенту повторно внутривенно капельно ввели 2,8 мл той же суспензии No.1 и дополнительно 3,0 мл той же суспензии No.8 - в подкожную клетчатку передней брюшной стенки в две точки по 1,5 мл в каждую.

25 При выписке отмечено, что состояние пациента улучшилось. Уменьшилась слабость в верхних и нижних конечностях, снизился гипертонус мышц шеи, спины, рук и обеих нижних конечностей. Дивергенция глазных яблок стала меньше. Нормализовался сон, улучшились аппетит и настроение.
30 Увеличилась работоспособность. Рекомендовано посетить клинику клеточной терапии в декабре 1996 г.

В соответствии с этой рекомендацией пациент вновь прошел лечение в клинике клеточной терапии в период 01-06.12.96 г.

35 Диагноз тот же: рассеянный склероз, цереброспинальная форма. Расходящееся содружественное косоглазие OS. Среднекалиберный нистагм. Гиперметропический астигматизм. Ангиопатия сетчатки. Начальная макулодистрофия

обоих глаз.

Рассказывает о положительной динамике течения заболевания. Полет перенес хорошо. Активно ведет себя. Разговорчив. Сам снял пиджак, рубашку, нижнее белье. Значи-
05 тельно быстрее исчезает гипертонус нижних конечностей при перемене положения ног. Привез с собой для работы компьютер, книги для чтения. Слабость в течение дня не беспокоит, хорошо спит, ест. Появилась сексуальная жизнь. Считает, что проблем с мочеиспусканием нет. При
10 осмотре отклонения во внутренних органах не выявлены. Пульс 76-78 уд./мин. АД 115/70 мм рт.ст., частота дыхания 16 в 1 минуту.

Обследован. Результаты общего анализа крови 02. и 04.12.96 г. приведены в таблице 4.1, а иммунологические
15 показатели крови от 02.12.96 г. - в таблице 4.2.

Биохимический анализ крови: билирубин общий - 21,7 ммоль/л, прямой - отрицательный, непрямой - 21,7 ммоль/л; тимоловая проба - 1,7 ед., АЛТ - 0,34 ммоль/л, АСТ - 0,21 ммоль/л, креатинин - 0,062 ммоль/л, мочеви-
20 - 5,8 ммоль/л.

02.12.96 г. Сахар крови - 3,9 ммоль/л.

03.12.96 г. Анализ мочи общий: объем - 60,0 мл, соломенного цвета, прозрачная, кислая, сахар - нет, белок - нет, эпителий плоский - в небольшом количестве, лейко-
25 циты - 2-3 в поле зрения.

02.12.96 г. ЭКГ: ритм синусовый, правильный. Нормальное положение электрической оси сердца. Дистрофические изменения миокарда.

02.10.96 г. Осмотрен невропатологом. Заключение:
30 состояние больного в сравнении с предыдущим осмотром в октябре 1996 г. значительно улучшилось: больной начал себя обслуживать: одевается, ест. При осмотре - сохраняется горизонтальный нистагм при взгляде в сторону, ринолалия уменьшилась. Мышечный тонус в руках нормальный,
35 высокий в ногах s>d. Рефлексы высокие, s>d, с двух сторон - симптом Бабинского. Координаторных динамических нарушений нет. Чувствительность сохранена.

Диагноз: рассеянный склероз, цереброспинальная фор-

ма. Рекомендуются продолжить курс клеточной терапии.

02.12.96 пациенту внутривенно капельно ввели 4,0 мл суспензии No.2, (образец 3038AL118; количество клеток $74 \cdot 10^6$ /мл, КОЕ ГМ - $32 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ - $3,4 \cdot 10^3$ /мл, РПГ CD₃₄ $7,6 \cdot 10^6$ /мл) и дополнительно подкожно в переднюю стенку живота в две точки - по 1,0 мл суспензии No.8 (образец 3038AM118, количество клеток $89 \cdot 10^6$ /мл).

03.12.96 г. пациент отметил уменьшение гипертонуса в конечностях, почувствовал себя сильнее. Хорошо спал.
10 Весь день работал на компьютере.

04.12.96 пациенту ввели внутривенно капельно 2,0 мл суспензии No.2, (образец 3038P513Z; количество клеток $63 \cdot 10^6$ /мл, КОЕ ГМ - $103 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ - $3,2 \cdot 10^3$ /мл, РПГ CD₃₄ - $7,2 \cdot 10^6$ /мл), и дополнительно подкожно в переднюю стенку живота в две точки - по 1,5 мл в каждую суспензии No.8 (образец 3038P513M, количество клеток $41 \cdot 10^6$ /мл).

При выписке отметил уменьшение гипертонуса в конечностях, мышцах шеи, ощутил прилив сил, настроен на лечение и восстановление утраченных движений. Рекомендованы: физические упражнения, включая занятия в бассейне, и продолжение лечения в апреле 1997 г.
20

В третий раз пациент поступил в клинику клеточной терапии 23.04.97 г. и находился в ней по 29.04.97 г.
25 Отмечает значительное улучшение состояния - самостоятельно встает, стоит, периодически ходит с помощью палочки, при ходьбе подворачивается левая стопа. Значительно улучшились зрение и слух левым ухом. Исчезло двоение в глазах, появилась возможность зрительной нагрузки, включая работу с компьютером. В предыдущие поездки больного обслуживала сопровождающая особа, в последний приезд больной обслуживает себя (еда, одевание, туалет, гигиенические процедуры и пр.) самостоятельно.
30

В неврологическом статусе - контактен, адекватен, ориентирован.
35

Глазные щели, зрачки d=s, движение глазных яблок в полном объеме, конвергенция - достаточная, периодически - быстро истощающийся мелкоразмашистый горизонтальный

нистагм.

Лицо симметрично, язык - по средней линии. Объем активных движений в руках - полный, мышечный тонус в руках практически не изменен, рефлексy повышены, d>s, с 05 расширением рефлексогенной зоны. Сила в ногах снижена, особенно в правой ноге, больше - в дистальных ее отделах. Тонус значительно повышен, особенно в сгибателях, преобладает в левой ноге, в правой ноге тонус комбинированный, за счет "мозжечковой" гипотонии. Рефлексy высокие, без расширения рефлексогенной зоны, клонуса стоп нет. Слева - подошвенный рефлекс, справа - неубедительный симптом Бабинского. Болевая чувствительность сохранена. Пальценосовую пробу выполняет четко. Стоит, опираясь на палочку. Двигается вдоль кровати, опираясь на 15 нее.

Обследован. Результаты общего анализа крови от 24 и 26.04.1997 г. приведены в таблице 4.1, а иммунологические показатели от 24.04.97 - в таблице 4.2.

26.04.97 г. Сахар крови - 4,3 ммоль/л.

20 27.04.97 г. Биохимический анализ крови: билирубин общий - 15,1 ммоль/л, прямой - отрицательный, непрямой - 15,1 ммоль/л; тимоловая проба - 2,4 ед, АЛТ - 0,38 ммоль/л, АСТ - 0,21 ммоль/л, бета-липопротеиды - 47 ед., креатинин - 0,074 ммоль/л, мочевины - 6,9 ммоль/л; общий 25 белок - 64 г/л, включая альбумины 52,6% и глобулины 47,4% (в том числе: альфа1 - 6,1%, альфа2 - 9,9, бета - 13,4 и гамма - 18,0%); серомукоид - 0,260 ед, СРР-отрицательный.

26.04.97 г. Анализ мочи общий: объем 120,0 мл, со- 30 ломенного цвета, прозрачная, кислая, плотность 1020 г/л, сахар - нет, белок - нет, эпителий плоский - в небольшом количестве, лейкоциты - единичные в поле зрения.

28.04.97 г. Анализ мочи общий: объем - 60,0 мл, со- ломенного цвета, прозрачная, кислая, сахар - нет, белок 35 - нет, эпителий плоский - в небольшом количестве, лейкоциты - 1-3 в поле зрения.

26.04.97 г. ЭКГ: Ритм синусовый, правильный. Нормальное положение электрической оси сердца. Признаки

умеренных изменений миокарда.

24.04.97 г. Осмотр невропатологом.

25.04.97 г. Окулист: При ориентировочной проверке
visus в очках $>0,6$ OU. Рефракция: Гиперметропический ас-
05 тигматизм. Подвижность глазных яблок в полном объеме.
Расходящееся косоглазие OS (около 10 градусов по Гирш-
бергу). Мелкокалиберный горизонтальный нистагм при
взгляде в сторону. Реакция зрачков на свет живая. Опти-
ческие среды в проходящем свете прозрачные. На глазном
10 дне: диски зрительного нерва контурированы, бледно-розо-
вые. Артерии сужены. Артерии/вены = 1/3. Нежные дистро-
фические очажки в макулярных зонах OU. Диагноз: Расходя-
щееся содружественное косоглазие OS. Умеренно выраженный
мелкокалиберный нистагм. Гиперметропический астигматизм.
15 Ангиопатия сетчатки. Начальная макулодистрофия обоих
глаз.

Диагноз прежний: рассеянный склероз, цереброспи-
нальная форма с тетрапарезом, преимущественно выраженным
в ногах, d>s. Расходящееся содружественное косоглазие
20 OS. Умеренно выраженный мелкокалиберный нистагм. Гипер-
метропический астигматизм. Ангиопатия сетчатки. Началь-
ная макулодистрофия обоих глаз.

24.01.97 г. пациенту ввели внутривенно капельно 2,0
мл суспензии No.2, (образец 3038P513Z; количество клеток
25 63×10^6 /мл, КОЕ ГМ 103×10^3 /мл, КОЕ ГЕММ $3,2 \times 10^3$ /мл, РПГ
 CD_{34} $7,2 \times 10^6$ /мл) и 2,2 мл суспензии No.8 (образец
3038P513M, количество клеток 41×10^6 /мл) в подкожную
клетчатку передней брюшной стенки в две точки.

27.01.97 г. по той же схеме ввели 1,6 мл той же
30 суспензии No.2 и 2,0 мл той же суспензии No.8.

Пациент отметил увеличение физической активности,
большую легкость в движениях, уменьшение гипертонуса,
увеличение работоспособности и улучшение настроения.

Рекомендовано перейти к разработке активных движе-
35 ний ногами в вертикальном положении, используя методы
механотерапии и продолжить дальнейшее лечение в клинике
клеточной терапии.

Пациент находится в постоянном контакте с врачами

клиники. Наблюдение продолжается.

Пример 5

Больной К. 1947 г.р., наблюдается в клинике клеточной терапии с февраля 1996 года.

05 При поступлении в клинику 12.02.96 г. жаловался на постоянные головные боли, постоянное чувство тяжести внизу живота, расширение и вздутие живота, общую слабость, потливость, отсутствие аппетита. Рассказывает неохотно, замкнут. Считает, что он обижен судьбой. Неудов-
10 летворен жизнью. Трудности общения в семье и на работе. Не справляется с производственной нагрузкой.

Из анамнеза заболевания: страдает запором с раннего детства. В подростковом периоде был поставлен диагноз: Долихосигма. Дискинезия толстой кишки по гипотоническому
15 типу.

В последний год стул у пациента не носил самостоятельного характера. Обычные раздражители толстой кишки: солевые, масляные, растительного происхождения слабительные не оказывал эффекта даже в значительных дозах.
20 Опорожнение кишечника достигал солевыми-масляными клизмами раз в 3-4 и даже 7 дней. При осмотре кожные покровы бледные, землистого оттенка. Выражение лица опущенное, угнетен своим состоянием.

Физикальные методы осмотра зафиксировали: АД 170/90
25 мм рт.ст., наличие брадикардии 52-54 уд./мин, болезненность в животе по ходу толстой кишки, отрезки которой пальпировались в виде мягких тестовидных расширенных цилиндров в обычных местах. Обнаружен наружный геморрой в виде нескольких болезненных, гиперемированных, увеличен-
30 ных узлов.

Пациент обследован.

При ирригоскопии 14.02.96 г. выявлено, что взвесь сульфата бария крайне медленно заполнила петли толстой кишки. Тугое заполнение получить не удалось. Толстая
35 кишка растянута газом, стенки ее истончены. Просвет ректосигмовидного отдела значительно расширен и достигает 12 см. Гаустрация отсутствует. В условиях двойного контрастирования определяются несколько дополнительных теней

сферической формы с крапчатой структурой, расположенные центрально в просвете кишки. При опорожнении кишки тени каловых камней перемещаются.

При пероральном приеме взвеси сульфата бария через
05 16 и 30 часов обнаружен контраст на протяжении всей толстой кишки и, особенно, в проктосигмовидном отделе.

Диагноз: Мегаколон. Диффузный колостаз. Копролиты.

Ректроманоскопия от 17.02.96 г. Тубус введен на 18 см. Осмотру слизистой прямой кишки мешают каловые массы.
10 Кишка резко расширена. Слизистая бледная, атрофичная, лишена складчатости, тусклая. Имеются набухшие, болезненные геморроидальные узлы с признаками воспаления в области внутреннего и наружного сфинктеров.

Заключение: Мегаколон. Атрофия слизистой. Дискине-
15 зия по гипотоническому типу. Геморрой в фазе обострения.

Результаты общего анализа крови и иммунологические показатели крови приведены в таблицах 5.1 и 5.2.

Заключительный диагноз: Мегаколон. Диффузный колостаз. Хронический геморрой в фазе обострения. Хроническая анемия легкой степени тяжести. Систолическая ар-
20 териальная гипертензия. Соматогенная депрессия.

20.02.96 г. пациенту внутривенно капельно ввели 2,0 мл суспензии No.1 (образец PL-104; количество клеток $62 \cdot 10^6$ /мл, КОЕ ГМ - $53 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ - $2,3 \cdot 10^3$ /мл,
25 РПГ CD₃₄ $5,4 \cdot 10^6$ /мл) и в переднюю стенку живота подкожно - суспензию No.8 (образец PM-104, количество клеток $105 \cdot 10^6$ /мл) в две точки по 1,0 мл в каждую. Введение пациент перенес удовлетворительно.

21.02.96 г. во время осмотра отмечено появление румянца на щеках пациента. Он был в приподнятом настроении, уменьшилась общая слабость, не болела голова, к концу дня появились позывы на стул, самостоятельный стул был в виде каломазанья. Полноценного опорожнения кишки не произошло. АД 120/180 мм рт.ст. Пульс 70 уд./мин.

35 Выписан 24.02.96 г. под наблюдение амбулаторного врача клиники.

В амбулаторной карте отмечено, что в конце февраля, в марте и апреле несколько раз был самостоятельный стул

с отхождением оформленных каловых масс. Очистительными клизмами пациент стал пользоваться реже: 1 раз в неделю и даже в 2 недели. Вновь перешел на использование солевых, масляных и иных известных слабительных средств примерно 1 раз в 2-4 дня в увеличенной до 50 % от обычной дозе.

Пациент стал активнее, чувствовал прилив жизненных и физических сил, уменьшились боли в животе, тяжесть внизу живота, головные боли возникали значительно реже.

10 Обследован. АД 120-140/70-90 мм рт.ст.

Ирригоскопия, ирригография 14.05.96 г. При тугом заполнении контрастной массой петель кишки выполняются все ее отделы. Гаустрация сохранена в слепой, восходящей и поперечной кишках и значительно меньше выражена в сигмовидной кишке, которая удлинена и расширена. При переходе в прямую кишку расширение просвета до 8 см. В условиях двойного контрастирования дополнительных образований на фоне газа не видно. При пероральном приеме взвеси сульфата бария контраст сохранен через 16 часов в проктосигмовидном отделе.

15

20

Диагноз: Долихоколон. Дискинезия кишки по гипотоническому типу.

Ректороманоскопия от 17.05.96 г. Тубус введен на 22 см. Просвет кишки расширен. Слизистая ее розовая, блестящая. Складчатость сглажена. Внутренние и наружные геморроидальные узлы спавшиеся, естественного цвета, без признаков воспаления.

25

Заключение: Дискинезия кишки по гипотоническому типу. Расширение ампулы прямой кишки. Геморрой в фазе ремиссии.

30

Показатели периферической крови и иммунологического статуса приведены в таблицах 1, 2.

В сентябре-декабре 1996 г. пациент отмечал появление самостоятельного стула один раз в 2-3 дня, появилась возможность регулировать стул диетой, балластными веществами растительного происхождения. Кожные покровы лица стали естественного цвета, пациент по-прежнему активен, отсутствует слабость, сохраняется аппетит, головные

35

боли беспокоят уже в связи с переменной погоды.

В марте 1997 г. пациент обратился в клинику в связи с ухудшением общего состояния, появлением вновь стойких запоров. Стал вновь пользоваться очистительными клизмами
05 два раза в неделю, появилась резистентность к приему слабительных препаратов.

13.03.97 г. повторно введены внутривенно капельно 2,0 мл суспензии No.1 (образец PL-104; количество клеток 62×10^6 /мл, КОЕ ГМ - 53×10^3 /мл, КОЕ ГЕММ - $2,3 \times 10^3$ /мл,
10 РПГ CD₃₄ $5,4 \times 10^6$ /мл) и в переднюю стенку живота подкожно - суспензия No.8 (образец PM-104, количество клеток 105×10^6 /мл) в две точки по 1,0 мл в каждую. Введение пациент перенес удовлетворительно.

До конца месяца состояние пациента существенно
15 улучшилось, и поныне он чувствует себя удовлетворительно, с проблемами здоровья и опорожнения кишечника справляется самостоятельно.

Пример 6

Больная F., 1962 г.р., наблюдается в клинике клеточной
20 точной терапии с 10.05.95 г. по поводу нейро-циркуляторной дистонии, астено-невротического синдрома, синдрома раздраженной толстой кишки (colon irritabile).

Беспокоили: общая слабость, резко усиливающаяся к вечеру, головные боли, головокружения, постоянное чувство
25 усталости, снижение работоспособности, нарушения сна (в течение 6 месяцев спала только после приема снотворного), разлитые (диффузные) боли в животе, иногда сильные, заставляющие стонать, придерживать живот руками, ложиться в постель. Метеоризм. Нередко возникали поносы,
30 связанные с малейшей погрешностью в еде и изменением питания. После расстройства стула в течение 2-3 дней появлялся запор, который сопровождался головными болями и схваткообразными болями в животе. Периодически отмечала наличие обильной слизи в стуле.

35 При осмотре: Рост 168 см. Вес 52 кг. Плечи узкие. Конечности длинные. Грудь и живот отвислые. Мышечная система не развита. Кожные покровы бледные, чистые. Лимфатические узлы не увеличены, АД 100/70 мм рт. ст. Пульс

88 уд./мин., аритмичный, экстрасистолия. Частота дыхания 18 в 1 минуту. Тоны сердца звучные, мелодия двучленная, систолический шум выслушивается на верхушке сердца. Над легкими ясный перкуторный звук. В легких ослабленное ве-
05 зикулярное дыхание. Живот при пальпации мягкий, болез-
ненный по ходу толстой кишки. В слепой кишке урчание. Большая кривизна желудка пальпируется на 2 см ниже пупка по средней линии. Сигмовидная кишка пальпируется в виде болезненного тела в надлобковой области. Видимые отеки
10 отсутствуют.

Обследована.

Ректороманоскопия 12.05.95 года. Тубус с трудом введен в прямую кишку на 20 см ввиду ее спазма. При раз-
дувании воздухом осмотренная слизистая бледная, блестя-
15 щая, покрыта слизью, несколько участков гиперемии. Складчатость обычная.

Заключение: Синдром раздраженной толстой кишки. Дискинезия по гиперкинетическому типу.

Ирригоскопия, ирригография 14.05.95 г. Ретроградно
20 контрастной клизмой медленно выполняются все отделы толстого кишечника. Все отделы кишки опущены на 5-10 см по отношению к ориентировочным точкам скелета. Гаустрация усиленная, неравномерная, более выражена в сигмовидной и нисходящей кишках. Рельеф слизистой оболочки пест-
25 рый, складки расширенные, подушкообразные, число их уменьшено. Имеется чередований спастических и расслабленных участков. Резкое спастическое сужение в области селезеночной кривизны. Уменьшение размеров и спазм ампулы прямой кишки. Дефектов наполнения не выявлено. Опо-
30 рожнение замедленное. После введения контраста *per os* через 16 часов определяется контрастирование кала на всем протяжении кишки при описанной уже картине.

Заключение: Колоноптоз. Синдром раздраженной толстой кишки.

35 15.05.95 г. пациентке ввели внутривенно 1,0 мл суспензии No.1 (образец F-58; количество клеток $72 \cdot 10^6$ /мл, КОЕ ГМ $164 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ $5,6 \cdot 10^6$ /мл, РПГ CD₃₄ $3,2 \cdot 10^6$ /мл) и в две точки по 1,0 мл в каждую подкожно в

переднюю стенку живота - суспензию No.8 (образец F-58M; количество клеток 72×10^6 /мл).

Введение перенесла удовлетворительно. Уже к вечеру почувствовала себя лучше, уменьшились боли в животе, исчезла головная боль, стала активнее. Не могла уснуть. Потребовалось назначение снотворного. Утром следующего дня ощущала психоэмоциональный подъем, чувствовала себя значительно лучше, усилился аппетит, активнее провела день. Болевой синдром не беспокоил. Вечером был самостоятельный несколько крутой стул со слизью. В дальнейшем спала без снотворного. Выписана из клиники 18.05.95 г. с улучшением общего самочувствия.

Контрольная ректороманоскопия 17.07.95 г. Тубус свободно введен в прямую кишку на 26 см. Слизистая чистая, гладкая, розовая, блестящая. Складчатость обычная.

Заключение: Функциональных и морфологических нарушений не выявлено.

Ирригоскопия, ирригография 19.07.95 г. Ретроградно взвесью сульфата бария выполнены все отделы толстого кишечника, которые несколько смещены вниз. Гаустрация равномерная и выражена во всех отделах. Опорожнение своевременное. Рельеф слизистой ажурный, прослеживается во всех отделах. Дефектов наполнений, деформаций не выявлено. В условиях двойного контрастирования (1000 мл воздуха) стенки кишечника эластичны, просвет кишки не изменен. Дополнительных образований на фоне газа не видно.

Заключение: Функциональной и органической патологии в толстой кишке не выявлено.

В августе, находясь на курорте, перенесла пищевую токсикоинфекцию, связанную с приемом некачественной пищи (кремовый десерт). Принимала антибиотик. Возобновились диффузные боли по всему животу, расстройства стула, появилось повышенное слизеобразование. Обратилась в клинику 30.08.95 г. После обследования, ректороманоскопии, бактериологического исследования кала был поставлен прежний диагноз: colon irritabile.

02.09.95 г. повторное по прежней схеме в том же количестве ввели ту же суспензию No.8.

Введение перенесла удовлетворительно. В течение недели вновь наблюдали купирование приступов боли, улучшение психоэмоционального состояния, увеличение двигательной активности, появление регулярного оформленного стула. Дефекация приносила удовлетворение.

Пациентка вновь обратилась в клинику клеточной терапии в марте 1996 года после перенесенной психической травмы (смерть матери). Вернулась клиническая картина заболевания, появились упорные поносы, кал стал жидким, обильным, пенистым. Усилилось вздутие живота и газоотделение. Изменился запах кала и газов. Он стал напоминать запах дрожжевой закваски. Отметила ухудшение при приеме углеводосодержащих продуктов: хлеба, крупяных каш, фруктов, сладостей. Появились раздражение и болезненность в области ануса.

Ректороманоскопия 29.03.96 г. Тубус введен на 20 см. Прямая кишка спазмирована. Ее слизистая пятнисто гиперемирована, покрыта пенистой белой слизью, в ампуле на задней поверхности множественные точечные эрозии.

Заключение: Катаральный, эрозивный проктосигмоидит. Бродильная диспепсия. Рекомендован бакпосев флоры кишечника.

Результат бактериологического исследования кала 29.03.96 г. Обнаружены *Candida albicans*. Уменьшено количество бифидобактерий до 10^6 /г при норме 10^8-10^{10} /г фекалий. Показатели периферической крови и иммунологического статуса - в таблицах 6.1 и 6.2.

Диагноз: Эрозивный проктосигмоидит. Дискинезия толстой кишки по гиперкинетическому типу. Кишечный дисбактериоз. Бродильная диспепсия.

Пациентке назначены Nistatini по 500000 ед. 6 раз в сутки в течение 10 дней, Bifidumbacterini Sicii по 3 дозы 3 раза в день в течение 28 дней, диета с уменьшением количества углеводов.

05.04.96 г. пациентке ввели: суспензию No.7 (образец FG-58, количество клеток 45×10^5 /мл) - в две точки по 1,5 мл в каждую подкожно в правый и левый верхние наружные квадранты ягодиц и суспензию No.8 (образец FM-58,

количество клеток $72 \cdot 10^6$ /мл) – в две точки по 0,5 мл в каждую подкожно в переднюю стенку живота.

Введение перенесла удовлетворительно. Почувствовала себя значительно лучше на следующий день. Частота стула 05 уменьшилась, исчезли боли в животе. Ночь спала спокойно.

В течение месяца исчезли вздутия и боли в животе и болезненность в области ануса. Стул 1 раз в сутки. Каловые массы приобрели оформленность и обычный запах.

При ректороманоскопии 10.04.96 г. не обнаружены органические и функциональные расстройства со стороны ректосигмовидного отдела толстой кишки. Осмотренная слизистая была чистая, гладкая, блестящая, естественного цвета. Спазмы прямой кишки во время осмотра не отмечены.

Со слов пациентки состояние оставалось стабильным до апреля 1997 г., когда она перенесла острое респираторное заболевание по типу аденовирусной инфекции. Появились диффузные боли в животе, связанные с приемом пищи и актом дефекации. Вновь появились эпизоды неустойчивого стула. В мае 1997 г. пациентка перенесла гинекологическую операцию по прерыванию беременности 12 недель. Послеоперационный период протекал с осложнениями. Пациентка лечилась по поводу эндометрита. Приняла несколько курсов антибиотиков. На этом фоне несколько раз были маточные кровотечения.

05.06.97 г. было сделано диагностическое и лечебное выскабливание полости матки. После этого в течение месяца клиническая симптоматика со стороны половых органов пошла на убыль. Исчезли бели, не беспокоили боли внизу живота, наладился менструальный цикл, но резко возросла общая слабость, головные боли, появились головокружение, сердцебиение, диффузные боли в животе, вернулось пенистое слизееобразование. Стул вновь стал частый и жидкий.

Пациентка была обследована. Проведены ректороманоскопия, бактериологическое исследование кала, общий анализ крови, определены показатели иммунитета.

Установлено:

Ректороманоскопия от 8.07.1997: Синдром раздраженной кишки.

Бактериологическое исследование кала от 8.07.97 - в кале обнаружены дрожжевые грибки типа *Candida*. Уменьшено количество бифидобактерий до 10^7 /г фекалий.

Общий анализ крови от 8.07.97: Анемия средней степени тяжести (см. таблицу 6.1).

Иммунологический статус: Снижение количества Т-лимфоцитов, Т-хелперов, увеличение количества В-лимфоцитов, и G-иммуноглобулинов.

Назначены: Nistatini по 500000 ед. 6 раз в сутки в течение 10 дней, диета с уменьшением количества углеводов.

15.07.97 г. пациентке ввели внутривенно капельно - 2,0 мл суспензии No.1 (образец F-58; количество клеток 72×10^6 /мл, КОЕ ГМ 164×10^3 /мл, КОЕ ГЕММ $5,6 \times 10^6$ /мл, РПГ CD_{34} $3,2 \times 10^6$ /мл) и в две точки по 0,5 мл в каждую подкожно в переднюю стенку живота - суспензию No.8 (образец F-58M, количество клеток 72×10^6 /мл).

Введение перенесла удовлетворительно.

16.07.97 г. чувствовала себя значительно лучше, отметили уменьшение усталости, уменьшение головной боли и головокружений. Возрос аппетит. Отмечено появление румянца на щеках. Боли и газообразование в животе уменьшились. Стул стал значительно реже.

В дальнейшем к концу первой недели нормализовались показатели крови, через 14 дней отмечено увеличение и нормализация показателей иммунитета. В течение месяца ушла клиническая картина, связанная с *colon irritabile*. Исчезли боли в животе. Значительно уменьшилось газообразование, вздутия живота прекратились. Стул нормализовался, 1 раз в день. Обычной консистенции и формы. Слизеобразование значительно уменьшилось. Головные боли и головокружения не беспокоят. Не ощущает усталость в течение дня. Прибавила в весе 4 кг. По настоящее время пациентка не предъявляет жалоб, связанных с проблемами здоровья, она активна, жизнерадостна, занимается спортом.

Пример 7

Больная О. 1964 г.р., наблюдается в клинике клеточной терапии с января 1996 г. Считает себя больной с ян-

варя 1995 г., когда впервые появились боли в животе, учащение стула до 8 раз в сутки с примесью слизи и крови. Явления прошли самопроизвольно. В октябре стул постепенно участился до 12 раз в сутки с примесью слизи, 05 крови, в течение нескольких недель температура тела повышалась до 38°С, похудела на 5 кг, отмечала постоянную слабость, потливость, снижение работоспособности. В ноябре 1995 г. была обследована в инфекционном и терапевтическом отделениях. Бактериологическое исследование ка- 10 ла и серологические исследования крови позволили исключить инфекционный характер заболевания.

Были проведены следующие исследования: общий анализ крови (таблица 7.1), иммунологические исследования (таблица 7.2), сделаны колоноскопия 12.11.95 г. и ирригоско- 15 пия 14.11.95 г.

Данные колоноскопии. Колоноскоп введен в купол слепой кишки и через баугиниеву заслонку на 10 см в тонкую кишку. Слизистая тонкой кишки бледно-розовая, бархатистая. Баугиниевая заслонка полулунной формы, ориентирована в просвет купола слепой кишки. Слизистая слепой, восходящей и поперечно-ободочной кишок без видимой органической патологии. Слизистая нисходящей, сигмовидной, прямой кишки гиперемирована, рыхлая, отечная, инфильтрирована, с налетом фибрина, множественными эрозиями и от- 25 дельно лежащими продольными язвами, единичными воспалительными полипами. Сегментарно имеются участки неизменной слизистой оболочки. На ней встречаются язвенные дефекты. Сосудистый рисунок смазан, гаустрация сглажена. В просвете кишки умеренное количество гнойно-кровянисто- 30 го отделяемого. Взяты прицельные биоптаты из 3 различных участков кишки.

Заключение: Болезнь Крона левой половины толстой кишки.

Данные биопсии: доставлены 6 прицельных биоптатов 35 слизистой и подслизистого слоя толстой кишки. Выраженная лейкоцитарная инфильтрация слизистой и подслизистой мононуклеарами. Обнаружены мелкие гиалинизированные сосуды, в подслизистом слое имеются участки фиброза, элемен-

ты гранулемы с многоядерными гигантскими клетками.

Заключение: Гранулематозный колит (болезнь Крона).

Данные ирригоскопии: введение контрастной взвеси определяет выраженную нечеткость, неровность контуров, 05 начиная с прямой кишки до средней трети поперечно-ободочной кишки. Просвет неравномерно сужен, выпрямлены гаустры, левые отделы кишки укорочены. На контурах и в просвете множество эрозий, язв, мелких и крупных дефектов. В сигмовидном отделе кишки множество спикүлоподобных 10 выпячиваний. Поперечно-ободочная кишка провисает, купол слепой кишки расположен низко. Опорожнение полное, рельеф слизистой в правых отделах - сохраненные складки. При вертикальном осмотре больной - птоз всех отделов толстой кишки.

15 Заключение: Болезнь Крона, преимущественно левостороннее поражение.

Пациентке был назначен салофальк в дозе 4 г в сутки per os, проводилась инфузионная терапия: изотоническим раствором хлористого натрия, раствором глюкозы, неогемо- 20 дезом. В течение ноября и декабря 1995 г. частота стула уменьшилась до 4 раз в сутки, уменьшилось количество примесей в кале, ослабли боли в животе. После погрешностей в еде и физической нагрузки во время рождественских каникул 1996 г. на фоне приема 4 г салофалька в сутки 25 частота стула опять возросла до 8-12 раз в сутки, усилились боли в животе, появилась примесь крови в кале.

Пациентка поступила в клинику клеточной терапии 18.01.96 г. При осмотре: кожные покровы бледные, истощена, потеря до 8-10 кг веса. Тургор кожи снижен. Отмечает 30 постоянную слабость и потливость в течение дня. Не может работать. Температура тела 37,3°C, пульс 98 уд./мин., ритмичный, АД 90/60 мм рт.ст. Тоны сердца звучные, ритмичные. В легких везикулярное дыхание. Живот мягкий, асимметричный, легкое выпячивание левой половины живота. 35 Диагноз: Болезнь Крона толстой кишки, преимущественно левого отдела. Фаза обострения. Анемия легкой степени тяжести.

Результаты общего анализа и иммунологические пока-

затели крови приведены в таблицах 7.1 и 7.2.

22.01.96 г. пациентке внутривенно ввели 1,9 мл суспензии No.1 (образец S-673; количество клеток $110 \cdot 10^6$ /мл КОЕ ГМ $58 \cdot 10^3$ /мл, КОЕ ГЕММ $1,2 \cdot 10^3$ /мл, РПГ CD_{34} 05 $2,4 \cdot 10^6$ /мл) и 1,0 мл суспензии No.7 (образец S-673E; количество клеток $81 \cdot 10^5$ /мл).

В течение первых дней после введения она почувствовала себя лучше, бодрее. Изменилось настроение, появилась уверенность в выздоровлении. Увеличилось время, проведенное вне постели. Стала больше есть. Частота стула в первый день после введения была 6 раз, во второй - 5 раз, 3,4,5 день - 4 раза. Видимые примеси крови в стуле исчезли к 7 дню. Реакция Грегерсена (наличие скрытой крови в кале) была положительной еще в течение 2-х месяцев, затем стала стойко отрицательной. За 2 месяца больная поправилась на 5 кг, частота стула от 1 до 3 раз в сутки, без примесей слизи и крови. Боли в левой половине живота уменьшались в течение 14 дней, а далее исчезли.

В конце февраля были сделаны контрольные исследования. Показатели периферической крови и иммунологические показатели приведены в таблицах 7.1 и 7.2.

Описание колоноскопии от 26.02.96 г.: Толстая кишка осмотрена на всем протяжении, кроме того осмотрены 10 см тонкой кишки. Слизистая тонкой кишки без особенностей. Слизистая слепой и восходящей кишки сочная, разрыхленная, сосудистый рисунок смазан, складки высокие, плотные, фестончатые. Слизистая оболочка поперечной ободочной кишки жемчужно-белого цвета, сосудистый рисунок четкий. Хорошо видна салниковая тения. Слизистая нисходящей кишки гладкая, блестящая, светло-розовая, сосудистый рисунок четко выражен. В сигмовидной и прямой кишках слизистая ярко красная, чистая, имеются отдельные эрозии, расположенные на гребнях складок, сосудистый рисунок смазан, хорошо видны крупные подслизистые сосуды. Гаустрация снижена.

Заключение: болезнь Крона левого отдела толстой кишки. Ремиссия.

Описание ирригоскопии: Ретроградно контрастной

клизмой свободно выполнены все отделы толстого кишечника. Гаустрация равномерная, несколько сглажена в прямой и сигмовидной кишках. Сохраняются ригидность стенок, неровность контура сигмовидной кишки. Имеются стойкие бариевые пятна на ее рельефе. Рельеф слизистой ажурный, спиккулы отсутствуют. Опорожнение ускоренное.

В условиях двойного контрастирования (1000 мл воздуха) дополнительных образований на фоне газа не видно.

Заключение: Болезнь Крона толстой кишки ректосигмо-
10 видного отдела в фазе затухающего обострения.

Состояние больной было удовлетворительным до октября 1996 г., когда вновь появились боли в животе, участился стул до 3-4 раз. Патологические примеси кровь, слизь в кале отсутствовали, но реакция Грегерсена стала
15 стойко положительной. Была проведена ректороманоскопия 16.10.96 года: слизистая прямой и сигмовидной кишки гиперемирована, рыхлая, отечная, имеет множество эрозий. Сосудистый рисунок смазан. Слизистая при контакте с прибором кровит.

20 Заключение: Эрозивный проктосигмоидит. Болезнь Крона, начинающееся обострение.

Проведено исследование крови и иммунологических показателей. Ввиду отсутствия отклонений от показателей нормы, суспензии Nos. 1, 2, 3, 4 не вводили.

25 18.10.96 г. пациентке ввели 2,0 мл суспензии No. 7 (образец S-673E; количество клеток $14 \cdot 10^5$ /мл) - равными долями подкожно в две точки в переднюю стенку живота и 3,0 мл суспензии No. 5 (образец S-673H; количество клеток $2,7 \cdot 10^6$ /мл) также равными долями в две точки подкожно в
30 наружные квадранты ягодиц.

Больная отметила уменьшение слабости, потливости, боли в животе прошли в течение недели. Через 8 дней реакция Грегерсена стала отрицательной. Частота стула 1-2-3 раза в сутки восстановилась в течение месяца. При
35 повторной ректороманоскопии 20.11.96 г. явления эрозивного проктосигмоидита отсутствовали.

Данные ректороманоскопии: Тубус ректороманоскопа введен на 22 см. Слизистая кишки чистая, гладкая, места-

ми ярко-красная. Эрозий и язв не выявлено.

Заключение: болезнь Крона, фаза ремиссии.

Наблюдение продолжается.

Пример 8

05 Больной А, 1938 г.р., наблюдается в клинике клеточной терапии с марта 1994 г.

Считает себя больным с декабря 1993 г., когда появились усталость, снижение работоспособности, отсутствие аппетита, бледность кожных покровов.

10 Лечился у терапевта, консультирован гематологом. Был поставлен диагноз: железодефицитная анемия, легкая степень тяжести. Получал препараты железа, проводил диетотерапию. Количество гемоглобина возросло со 110 до 130 г/л. В феврале 1994 г. вновь снизились показатели крас-
15 ной крови, похудел на 4 кг, возвратились усталость. Был обследован в терапевтическом отделении, где обнаружены рак прямой кишки (в верхнеампулярном отделе, блюдцеобразный рак по типу аденокарциномы).

20 Был поставлен диагноз: рак прямой кишки T3N3M0G1 (стадия C2 по Duke). Пациент был переведен в хирургическое отделение для проведения оперативного лечения. В это время больной похудел на 7 кг, его беспокоила резкая слабость, головокружение, потливость, диарея с прожилками алой крови, отсутствие аппетита, температура до 38°C,
25 чаще поднимающаяся к вечеру. Практически весь день начал проводить в постели. Из лабораторных показателей имели отклонения следующие: эритроциты 2,4 Т/л, гемоглобин 76 г/л, лейкоциты 3,8 Г/л, СОЭ 44 мм/ч, белок крови 62 г/л, альбумины 45%, глобулины 55% (в том числе: альфа1 - 6%,
30 альфа2 - 14%, бета - 13% и гамма - 22%).

При подготовке к операции ни препараты, восстанавливающие показатели крови, ни переливание эритроцитарной массы не подняли количество эритроцитов и гемоглобина. Назначение антибиотиков, проведение дезинтоксикационной
35 терапии не вызвало снижение температуры. Явления интоксикации нарастали, пациент значительно похудел.

5 марта 1994 г. ему внутривенно ввели 2,0 мл суспензии No.1 (образец FL-406; количество клеток

170*10⁶/мл, КОЕ ГМ 88*10³/мл, КОЕ ГЕММ 2,3*10³/мл, РПГ CD₃₄ 4*10⁶/мл).

6 марта пациент отмечал уменьшение слабости, потливости, нормализовалась температура, усилился аппетит, 05 вставал с постели, несколько часов провел в кресле.

8 марта в общем анализе крови: количество эритроцитов - 2,2 Т/л, гемоглобин - 70 г/л, лейкоциты - 5,2 Г/л, СОЭ - 16 мм/ч.

С каждым днем пациент чувствовал себя лучше. 14 10 марта количество эритроцитов составило 3,8 Т/л, гемоглобин 132 г/л, количество лейкоцитов 5,6 Г/л, СОЭ 22 мм/ч. Пациент стал активнее, слабость в течение дня не беспокоила, стул восстановился до 1-2 раз в сутки, по-прежнему с прожилками крови, но с оформленными каловыми масса- 15 ми.

Температура тела нормализовалась, но несколько раз были отмечены подъемы температуры до 37,3°С в вечерние часы, прибавил в весе 2 кг.

16 марта 1994 года проведена радикальная операция: 20 Колэктомия с илеоанальным эндоректальным анастомозом.

Уточнен диагноз: Рак прямой кишки, стадия С по Duke, T3N1M0G1.

Постоперационный период протекал удовлетворительно. Был выписан из клиники 28.03.94 г. Рекомендовано прово- 25 дить химиотерапию с первого апреля в химиотерапевтическом отделении НИИ онкологии.

Были назначены химиопрепараты в течение 3-х месяцев: Винкристин 1 мг/сут внутривенно 1 раз в 3 недели, 5-фторурацил 500 мг внутривенно в течение 4-х часов 1-7 30 день каждые 3 недели.

Лечение больной переносил удовлетворительно до 9 мая, когда у него внезапно появились боли во рту, в горле, поднялась температура до 38,7°С, увеличились и были болезненны на ощупь околоушные и подчелюстные лимфати- 35 ческие узлы. При осмотре ротовой полости и задней стенки глотки были выявлены гиперемия слизистой и многочисленные эрозии, на правой миндалине обнаружена кратерообразная с темными краями язва.

В анализе крови (см. таблицу 8.1) обнаружены: эритроциты - 3,2 Т/л, гемоглобин - 90 г/л, лейкоциты - 0,8 Г/л, тромбоциты - 170 Г/л, СОЭ - 55 мм/ч. В моче появились протеинурия, эритроцитурия. Был поставлен диагноз:
05 Агранулоцитоз. Язвенно-некротическая ангина. Эрозивный мукозит.

11 мая пациенту внутривенно ввели 1,0 мл суспензии No.1 (образец F-406; количество клеток 170×10^6 /мл, КОЕ ГМ 88×10^3 /мл, КОЕ ГЕММ $2,3 \times 10^3$ /мл, РПГ CD₃₄ 4×10^6 /мл).

10 Уже к вечеру того же дня температура снизилась до 37,5°C, больной отмечал уменьшение слабости.

12 мая с утра был бодр, уменьшились боли во рту, гиперемия слизистой рта приобрела цианотичный оттенок, на правой миндалине - фибриновая корка. Новые участки
15 эрозий не появились. Лимфатические узлы увеличены в размерах, но безболезненны, температура в течение дня субфебрильная. Анализ крови от 12.05.94 г. - см. таблицу 8.1. К 19 мая показатели крови восстановились в полном объеме (см. там же).

20 Пациент продолжил химиотерапию и в течение 1994 г. получил 6 курсов без осложнений со стороны крови и внутренних органов.

19 декабря 1994 г. ему для коррекции показателей иммунитета внутривенно ввели 1,0 мл суспензии No.2 (образец F-406L; количество клеток - 93×10^6 /мл, КОЕ ГМ 54×10^3 /мл, КОЕ ГЕММ $4,8 \times 10^3$ /мл, РПГ CD₃₄ 9×10^6 /мл) и 3,0 мл суспензии No.6 (образец F-406T; количество клеток 109×10^4 /мл).

Исходные и восстановленные показатели иммунологического статуса приведены в таблице 8.2.
30

Пациент наблюдался в онкологическом хирургическом отделении. Проходил проверку 1 раз в шесть месяцев.

Исследовались показатели крови, иммунитета, проводилась ректороманоскопия, УЗИ печени и органов брюшной
35 полости, ирригоскопия (1 раз в год), колоноскопия (1 раз в год). Состояние пациента было удовлетворительное.

В 1997 г. на месте анастомоза у больного обнаружены 2 полипа размерами 5 и 7 мм воспалительного происхожде-

ния (данные биопсии от 12 марта). Отмечено также снижение общего количества лимфоцитов, Т-лимфоцитов, хелперов, НК-клеток.

14.03.97 пациенту внутривенно ввели такие же, как в 05 предыдущем случае, суспензии No.2 (1,0 мл) и No.6 (1,5 мл).

Приведены анализы иммунологического статуса и общего анализа крови от 16 апреля и 12 сентября 1997 года. При ректороманоскопии 16 апреля 1997 полипы на слизистой 10 прямой кишки и в месте анастомоза не выявлены. Наблюдение продолжается.

Промышленная применимость

Как видно из приведенных примеров, клеточная терапия согласно изобретению позволяет весьма успешно полу- 15 чать выраженный и довольно стойкий лечебный эффект при таких заболеваниях, которые длительно не поддавались лечению традиционными средствами.

Указанные результаты обусловлены системным воздействием клеточных суспензий на пациентов, которое проявля- 20 ется:

во-первых, в пополнении организма реципиента гистосовместимым "строительным материалом" в виде массы неспециализированных или слабо специализированных эмбриональных клеток, которые током крови распределяются по 25 органам и тканям и, организуя новые клеточные ассоциации, размножаются и восстанавливают утраченные или существенно ослабленные функции;

во-вторых, в выработке указанными клетками биологически активных веществ, которые током крови и лимфы раз- 30 носятся по организму реципиента и оказывают медикаментозамещающее действие.

Действительно, клоны специализированных клеток, образующиеся из материала введенных пациентам клеточных суспензий, способны длительно синтезировать in situ ве- 35 щества, которые пациент должен был бы принимать в виде лекарств.

Приложение

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ СОГЛАСНО ИЗОБРЕТЕНИЮ

Вводные замечания:

а) в номерах таблиц первая цифра соответствует номеру примера, а вторая служит номером таблицы "внутри" соответствующего примера;

б) сокращение "КТ" означает "клеточная терапия согласно изобретению";

в) нормативные значения показателей приведены в соответствии с полом пациентов.

Таблица 2.1

Показатели периферической крови после первого введения

[illegible]

Продолжение таблицы 2.1

Показатели периферической крови после второго введения

	3-и	7-е	30-е	48-е	Через	Через	Через
05 Показатели	сутки	сутки	сутки	сутки	2 мес	2,5 м	11мес
Эритроциты, $10^{12}/л$	1,4	1,6	2,4	2,5	3,2	4,2	4,8
Гемоглобин, г/л	58	54	75	88	136	142	148
10 Цв. показ.	1,0						
Лейкоциты, 10^9 в 1 л	2,4	2,2	3,0	4,2	3,5	3,7	4,6
Базофилы	1	1		1	1	1	1
Эозинофилы	4	2		4	2	1	3
15 Метамиелоц.							
Палочкояд.	4			26	2	4	6
Сегментояд.	19				35	21	35
Лимфоциты	59			61	54	65	52
Моноциты	15			8	6	8	3
20 Тромбоциты, $10^9/л$	32	84	103	118	220	220	215
СОЭ, мм/ч	40	44	50	18	6	4	7
Мононук-леары			3				

Таблица 2.2

Абсолютное содержание форменных элементов костного мозга

		9-й день	15-й день	24-й день
		после	после	после
		До	1-й КТ	2-й КТ
		КТ	10 ⁹ /л	10 ⁹ /л
05	Показатели			
	Нейтрофилоциты	0,01	0,02	0,1
	промиелоциты			
10	Нейтрофил. миелоциты	0,06	0,86	0,1
	Нейтр. метамиелоциты	0,01	0,75	0,6
	Н-ты. палочкоядерные	0,09	0,33	0,86
	Н-ты. сегментоядерные		0,05	0,63
	Эозинофилы	0,01	0,1	0,1
15	сегментоядерные			
	Базофилы	0,11	0,46	0,3
	сегментоядерные			
	Эритробласты	0,05	0,86	0,5
	Нормоциты базофильные	0,138	1,13	0,8
20	Нормоциты	0,07	2,33	2,3
	полихроматофильные			
	Нормоциты оксифильные	0,014	0,06	0,16
	Лимфобласты	0,01	0,33	0,03
	Лимфоциты	1,33	2,43	2,06
25	Голоядерные	0,1	0,06	0,26
	Плазматические клетки	0,01	0,23	0,3
	Мегакариоциты	0	Еди-	2:25 не
	"в препарате"		нич-	функцио-
	(в поле зрения)		ные	нируют
30	Мегакариоциты, 10 ⁹ /л	2	10	10
				180

Таблица 2.3

Иммунологические показатели крови

	Норма	17.12.1994	28.12.1994	3.2.1995	6.7.1996
05 Показатели					
Лимфоциты абс в 1мкл	720-3600	1012	2128	1408	1316
T-лимфоциты (CD ₃)	701-2005	314	1274	760	763
CD ₃ , %	55-83	31	60	54	58
CD ₄ , %	27-56	18	29	31	35
10 T-supressor (CD ₈)	146-810	128	518	394	290
CD ₈ , %	15-37	12,6	24,3	28	22
CD ₄ /CD8 Ratio	0,6-2,8	1,42	1,19	1,10	1,59
НК-клетки CD ₁₆ ±CD ₅₆	70-350	91	211	280	157
CD ₁₆ ±CD ₅₆ , %	4-18	9	10	13	12
15 В-лимф-ты. (CD19)	22-530	66	314	225	197
CD ₁₉ , %	4-24	65	14,7	16	15
В-2 микроглобулины	0,8-2,6	0,9	2,4	2,8	2,2
Иммуноглобулины:					
A, г/л	1,03-4,04	0,7	3,0	4,6	3,7
20 G, г/л	6,64-14,0	3,2	12,4	16,4	12,6
M, г/л	0,55-1,41	0,3	1,3	1,2	1,6

Продолжение таблицы 2.3

		Норма	11.3	10.4	18.9.
Показатели			1997	1997	1997
05	Лимфоциты абс в 1мкл	720-3600	984	1598	1350
	Т-лимфоциты (CD ₃)	701-2005	423	815	567
	CD ₃ %	55-83	43	51	42
	CD ₄ %	27-56	41	38	39
	Т-supressor (CD ₈)	146-810	344	431	351
10	CD ₈ %	15-37	35	27	26
	CD ₄ /CD8 Ratio	0.6-2.8	1.17	1.41	1.50
	НК-клетки CD ₁₆ +CD ₅₆	70-350	138	176	243
	CD ₁₆ +CD ₅₆ %	4-18	14	11	18
	В-лимф-ты. (CD19)	22-530	197	288	203
15	CD ₁₉ %	4-24	20	18	15
	В-2 микроглобулины	0.8-2.6	2.1	1.9	2.3
	Иммуноглобулины:				
	А, г/л	1.03-4.04	3.2	4.1	4.2
	Г, г/л	6.64-14.0	18.1	12.0	11.0
20	М, г/л	0.55-1.41	1.2	0.8	0.8

Таблица 3.1
Показатели периферической крови

	Показатели	Норма	16.05.96	01.07.96
05	Эритроциты, Т/л	4,0-5,5	4,2	4,2
	Гемоглобин, Г/л	132-165	130	136
	Цвет. показатель	0,82-1,05	0,9	0,9
	Тромбоциты	180-320	180	200
	Лейкоциты, Г/л	4-8,8	4,0	3,9
10	Эозинофилы	до 6%	3	2
	Палочкоядерные	до 6%	2	2
	Сегментоядерные	до 70%	71	59
	Лимфоциты	20-40%	20	32
	Моноциты	2-9%	4	5
15	СОЭ	1-10	3	3

Таблица 3.2.
Иммунологические показатели крови

	Показатели	Норма	16.05.96	01.07.96
20	Лимфоциты абс в 1мкл	720-3600	800	1248
	Т-лимфоциты (CD ₃)	701-2005	272	636
	CD ₃ , %	55-83	34	51
	T-helper (CD ₄)	357-1254	144	537
	CD ₄ , %	27-56	18	43
25	T-supressor (CD ₈)	146-810	88	349
	CD8, %	15-37	11	28
	CD ₄ /CD ₈ Ratio	0,6-2,8	1,64	1,53
	NK-клетки (CD ₁₆ +CD ₅₆)	70-350	120	237
	CD ₁₆ +CD ₅₆ , %	4-18	15	19
30	В-лимфоциты (CD ₁₉)	22-530	128	150
	CD ₁₉ , %	4-24	16	12
	В-2 микроглобулин	0,8-2,6	3,2	2,2
	Иммуноглобулины:			
	A, Г/л	1,03-4,04	1,4	1,2
35	G, Г/л	6,64-14,0	20,2	14,3
	M, Г/л	0,55-1,41	0,9	0,7

Таблица 4.1

Показатели периферической крови

		7.10.	8.10.	10.10.	2.12.
05	Показатели	Норма	1996	1996	1996
	Эритроциты, Т/л	4,0-5,5	4,95	4,8	4,6
	Гемоглобин, Г/л	132-165	160	160	130
	Цвет. показатель	0,82-1,05	1,0	1,0	0,9
	Тромбоциты	180-320	260	290	300
10	Лейкоциты, Г/л	4-8,8	7,4	5,6	5,0
	Эозинофилы	до 6%	1	3	3
	Палочкоядерные	до 6%	3	4	8
	Сегментоядерные	до 70%	68	69	65
	Лимфоциты	20-40%	26	21	21
15	Моноциты	2-9%	2	3	3
	СОЭ	1-10	3	2	16

Продолжение таблицы 4.1

Показатели периферической крови

		4.12.	24.4.	26.4.
21	Показатели	Норма	1996	1997
	Эритроциты, Т/л	4,0-5,5	4,5	4,4
	Гемоглобин, Г/л	132-165	150	146
	Цвет. показатель	0,82-1,05	1,0	1,0
25	Тромбоциты	180-320	270	190
	Лейкоциты, Г/л	4-8,8	6,0	5,2
	Эозинофилы	до 6%	2	2
	Палочкоядерные	до 6%	3	3
	Сегментоядерные	до 70%	64	65
30	Лимфоциты	20-40%	28	22
	Моноциты	2-9%	3	8
	СОЭ	1-10	5	3

Таблица 4.2.

Иммунологические показатели крови

<hr/>					
	Показатели	Норма	7.10.96	2.12.96	26.4.97
05	Лимфоциты абс в 1мкл	720-3600	1924	2652	2430
	T-лимфоциты (CD ₃)	701-2005	827	1538	1743
	CD ₃ %	55-83	43	58	72
	T-helper (CD ₄)	357-1254	693	1113	941
	CD ₄ %	27-56	36	42	54
10	T-supressor (CD ₈)	146-810	847	822	850
	CD ₈ %	15-37	44	31	35
	CD ₄ /CD ₈ Ratio	0,6-2,8	0,82	1,35	1,54
	НК-клетки (CD ₁₆ +CD ₅₆)	70-350	135	318	194
	CD ₁₆ +CD ₅₆ %	4-18	7	12	8
15	B-лимфоциты (CD ₁₉)	22-530	500	398	413
	CD ₁₉ %	4-24	26	15	17
	B-2 микроглобулин	0,8-2,6	3,1	1,9	1,6
	ИММУНОГЛОБУЛИНЫ:				
	A, г/л	1,03-4,04	3,6	3,2	3,9
20	G, г/л	6,64-14,0	18,4	12,5	14,3
	M, г/л	0,55-1,41	0,8	0,9	0,74

Таблица 5.1

Показатели периферической крови

		До	После КТ, сутки				
05	Показатели	Норма	КТ	3-и	14-е	160-е	150-е
	Эритроциты, Т/л	м 4,0-5,5	3,4	3,2	4,2	4,3	4,5
	Гемоглобин, Г/л	132-165	110	105	118	120	125
	Цвет. показатель	0,82-1,05	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9
	Ретикулоциты, %	0,2-1,2	0,6	0,8	1,2	0,8	0,6
10	Тромбоциты	180-320	250	270	250	250	250
	Лейкоциты, Г/л	4 - 8,8	4,4	6,2	6,0	4,8	5,0
	Эозинофилы	до 6 %	4	5	3	2	3
	Базофилы	до 1 %	0,5	1	1	1	1
	Палочкоядерные	до 6 %	5	4	6	4	3
15	Сегментоядерные	до 70 %	62,5	52	51	57	63
	Лимфоциты	20-40 %	24	32	34	32	28
	Моноциты	2 - 9 %	4	6	5	4	2
	Анизоцитоз	отсутств.	+	+	+	+	+
	Пойкилоцитоз	отсутств.	+	+	+	+	+
20	СОЭ	1 - 10	22	5	8	10	8

Таблица 5.2

Иммунологические показатели крови

			После КТ		
05	Показатели	Норма	До КТ	14	60
	Лимфоциты абс в 1мкл	720-3600	1056	2040	1536
	T-лимфоциты (CD ₃)	701-2005	640	1420	1100
	CD ₃ , %	55-83	61	69,6	71,6
	T-helper (CD ₄)	357-1254	215	817	519
10	CD ₄ , %	27-56	20,4	40,0	33,8
	T-supressor (CD ₈)	146-810	120	318	463
	CD ₈ , %	15-37	11,4	15,6	30,1
	CD ₄ /CD ₈ Ratio	0,6-2,8	1,8	2,6	1,12
	NK-клетки (CD ₁₆ +CD ₅₆)	70-350	112	211	347
15	CD ₁₆ +CD ₅₆ , %	4-18	10,6	10,3	22,6
	B-лимфоциты (CD ₁₉)	22-530	207	542	483
	CD ₁₉ , %	4-24	19,6	26,6	31,4
	B-2 микроглобулин	0,8-2,6	0,94	2,8	2,4
	Имуноглобулины:				
20	A, г/л	1,03-4,04	0,80	3,2	3,3
	G, г/л	6,64-14,0	17,3	16,2	9,5
	M, г/л	0,55-1,41	0,4	0,7	0,6

Таблица 6.1

Показатели периферической крови

		29.03	8.07	14.07	22.07	2.12.
05	Показатели	Норма	1997	1997	1997	1997
	Эритроциты, Т/л	3,7-4,7	3,8	2,8	4,1	4,0
	Гемоглобин, Г/л	115-145	120	95	128	130
	Цвет. показатель	0,82-1,05	0,9	0,8	0,9	0,9
	Ретикулоциты, %	0,2-1,2	0,8	0,8	1,2	0,8
10	Ф-гемоглобин, %	отсутств.			1,4	0,8
	Тромбоциты	180-320	250	270	300	250
	Лейкоциты, Г/л	4 - 8,8	5,4	6,2	6,0	5,8
	Эозинофилы	до 6 %	4	3	4	2
	Базофилы	до 1 %	1	1	1	0
15	Миелоциты	отсутств.	-	-	-	-
	Метамиелоциты	отсутств.	-	-	1	-
	Палочкоядерные	до 6 %	6	5	7	3
	Сегментоядерные	до 70 %	56	64	48	60
	Лимфоциты	20-40 %	27	23	34	30
20	Моноциты	2 - 9 %	6	4	5	5
	Анизоцитоз	отсутств.	-	+	+	+
	Пойкилоцитоз	отсутств.	-	+	+	+
	СОЭ	2 - 15	12	25	5	8

Таблица 6.2

Иммунологические показатели крови

		29.03	08.07	22.07	02.12
05	Показатели	Норма	1997	1997	1997
	Лимфоциты абс в 1мкл	720-3600	1350	1420	1472
	T-лимфоциты (CD ₃)	701-2005	1035	656	1235
	CD ₃ , %	55-83	77	46	71
	T-helper (CD ₄)	357-1254	740	314	713
10	CD ₄ , %	27-56	55	22	41
	T-supressor (CD ₈)	146-810	347	442	487
	CD ₈ , %	15-37	26	31	28
	CD ₄ /CD ₈ Ratio	0,6-2,8	2,1	0,7	1,5
	НК-клетки (CD ₁₆ +CD ₅₆)	70-350	260	214	278
15	CD ₁₆ +CD ₅₆ , %	4-18	19	15	16
	B-лимфоциты (CD ₁₉)	22-530	209	628	539
	CD ₁₉ , %	4-24	15	44	31
	B-2 микроглобулин	0,8-2,6	1,4	2,4	2,3
	Иммуноглобулины:				
20	A, г/л	0,54-3,43	2,5	2,3	3,2
	G, г/л	5,87-16,3	14,7	21,4	18,0
	M, г/л	0,37-1,95	0,8	1,6	1,2

Таблица 7.1
Показатели периферической крови

		12.11.	19.01.	28.02.	16.10.
05	Показатели	Норма	1995	1996	1996
	Эритроциты, Т/л	3,7-4,7	3,2	3,0	4,2
	Гемоглобин, Г/л	115-145	97	90	123
	Цвет. показатель	0,82-1,05	0,8	0,8	0,9
	Ретикулоциты, %	0,2-1,2	0,6	0,8	1,1
10	Тромбоциты	180-320	250	170	320
	Лейкоциты, Г/л	4 - 8,8	3,2	4,2	5,1
	Эозинофилы	до 6 %	4	3	2
	Базофилы	до 1 %	1	1	1
	Палочкоядерные	до 6 %	4	5	6
15	Сегментоядерные	до 70 %	67	68	54
	Лимфоциты	20-40 %	18	15	35
	Моноциты	2 - 9 %	6	8	2
	Анизоцитоз	отсутств.	+	+	+
	Пойкилоцитоз	отсутств.	+	+	+
20	СОЭ	2 - 15	24	32	12

Таблица 7.2

Иммунологические показатели крови

		12.11	19.01	28.02	16.10
05 Показатели	Норма	1995	1996	1996	1996
Лимфоциты абс в 1мкл	720-3600	576	630	1785	1440
T-лимфоциты (CD ₃)	701-2005	179	170	857	734
CD ₃ , %	55-83	31	27	48	51
T-helper (CD ₄)	357-1254	138	158	607	605
10 CD ₄ , %	27-56	24	25	34	42
T-supressor (CD ₈)	146-810	69	145	482	360
CD ₈ , %	15-37	12	23	27	25
CD ₄ /CD ₈ Ratio	0.6-2.8	2.0	1.09	1.25	.68
НК-клетки (CD ₁₆ +CD ₅₆)	70-350	17	32	214	158
15 CD ₁₆ +CD ₅₆ , %	4-18	3	5	12	11
B-лимфоциты (CD ₁₉)	22-530	92	132	179	187
CD ₁₉ , %	4-24	16	21	14	13
B-2 микроглобулин	0.8-2.6	2.8	3.1	2.2	1.8
Иммуноглобулины:					
20 A, г/л	0/54-3.43	0.4	0.7	1.2	1.4
G, г/л	5.87-16.3	14.3	16.4	8.2	5.9
M, г/л	0.37-1.95	0.6	2.2	1.8	1.2

Таблица 8.1

Показатели периферической крови

		3. 03.	8. 03.	14. 03.	28. 03.
05	Показатели	Норма	1994	1994	1994
	Эритроциты Т/л	м 4, 0-5, 5	2, 4	2, 2	3, 8
	Гемоглобин Г/л	132-165	76	70	132
	Цвет. показатель	0, 82-1, 05	0, 8	0, 8	0, 9
	Ретикулоциты %	0, 2-1, 2	0, 6	1, 2	1, 6
10	Ф-гемоглобин, %	-	-	0, 6	1, 2
	Тромбоциты	180-320	250	270	280
	Лейкоциты Г/л	4 - 8, 8	3, 8	5, 2	5, 6
	Эозинофилы	до 6 %	3	2	2
	Базофилы	до 1 %	1	1	1
15	Миелоциты	нет	-	1	-
	Метамиелоциты	нет	-	2	2
	Палочкоядерные	до 6 %	4	6	6
	Сегментоядерные	до 70 %	59	59	48
	Лимфоциты	20-40 %	28	25	36
20	Моноциты	2 - 9 %	5	4	5
	СОЭ	1 - 10	44	16	22

продолжение таблицы 8.1

Показатели периферической крови

		9.05	12.05	19.05	21.07	17.12
05 Показатели	Норма	1994	1994	1994	1994	1994
Эритроциты, Т/л	4,0-5,5	3,2	3,4	4,6	4,4	4,3
Гемоглобин, Г/л	132-165	90	100	138	140	135
Цвет. показатель	0,82-1,05	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Ретикулоциты, %	0,2-1,2	0,3	1,2	0,6	0,6	-
10 F-гемоглобин, %	отсутств.	-	0,8	1,2	0,6	0,8
Тромбоциты	180-320	170	320	300	280	270
Лейкоциты, Г/л	4-8,8	0,8	3,2	4,8	5,2	4,6
Эозинофилы	до 6 %	-	2	1	3	4
Базофилы	до 1 %	1	1	1	1	-
15 Миелоциты	отсутств.	-	1	-	-	-
Метамиелоциты	отсутств.	-	2	-	-	-
Палочкоядерные	до 6 %	3	8	6	4	5
Сегментоядерные	до 70 %	52	55	58	54	62
Лимфоциты	20-40 %	42	27	30	32	22
20 Моноциты	2-9 %	2	4	4	6	7
СОЭ	1-10	55	30	26	16	15

продолжение таблицы 8.1

Показатели периферической крови

		28.12	3.02	6.07	11.3	16.4	12.9
05	Показатели	Норма	1994	1995	1996	1997	1997
	Эритроциты	4,0-5,5	5,0	4,3	4,8	4,2	4,2
	Гемоглобин, Г/л	132-165	145	137	142	130	132
	Цв. показатель	0,82-1,05	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
	Ретикулоциты, %	0,2-1,2	-	0,6	-	0,7	0,6
10	F-гемоглобин, %	отсутств.	1,6	0,8	1,4	0,4	1,2
	Тромбоциты	180-320	320	300	280	340	300
	Лейкоциты, Г/л	4 - 8,8	5,6	4,4	4,7	4,1	4,5
	Эозинофилы	до 6 %	2	3	5	4	4
	Базофилы	до 1 %	1	1	-	1	1
15	Миелоциты	отсутств.	-	-	-	-	-
	Метамиелоциты	отсутств.	-	-	-	-	-
	Палочкоядерные	до 6%	4	5	3	4	4
	Сегментоядерные	до 70 %	50	53	56	64	56
	Лимфоциты	20-40%	38	32	28	24	30
20	Моноциты	2-9%	5	6	8	3	6
	СОЭ	1-10	6	12	8	9	8

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения людей эмбриональными клеточными суспензиями, который предусматривает:

05 приготовление суспензии, которая содержит живые клетки трупa человеческого эмбриона, выбранные из группы, состоящей из гемопоэтических клеток печени, гемопоэтических клеток селезенки и их смеси, и фармацевтически приемлемую жидкую среду, в 1 мл которой присутствуют:

- а) ядродержащие клетки..... $5-200 \times 10^6$,
10 б) колониеобразующие единицы гранулоцитов/макрофагов (далее сокращенно - КОЕ ГМ)... $20-200 \times 10^3$,
в) колониеобразующие единицы гранулоцитов, эритроцитов, моноцитов/макрофагов и мегакариоцитов (далее сокращенно - КОЕ ГЕММ)..... $0,5-10 \times 10^3$ и
15 г) ранние предшественники гемопоэза CD_{34+} (далее сокращенно - РПГ CD_{34})..... $1-20 \times 10^6$, -

и по меньшей мере однократное введение такой приготовленной ex tempore или замороженной при криогенных температурах и размороженной после хранения суспензии в
20 организм реципиента,

отличающийся тем, что

наряду с указанной основной суспензией готовят по меньшей мере одну дополнительную суспензию, которая содержит клетки, выбранные из группы, состоящей из стволовых клеток гемопоэза печени, стволовых клеток гемопоэза селезенки, гепатоцитов, тимоцитов, эпителиоцитов первичного пищевого канала, нервных клеток мозга и смесей клеток по меньшей мере двух указанных видов, и по меньшей мере одну такую дополнительную суспензию вводят в
30 организм пациента наряду с основной суспензией.

2. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что по меньшей мере одну дополнительную суспензию вводят в организм пациента одновременно с основной суспензией.

3. Способ по п.2, **отличающийся** тем, что перед введением в организм пациента по меньшей мере одну дополнительную суспензию объединяют с основной суспензией.

4. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что основную суспензию и по меньшей мере одну дополнительную суспен-

зию вводят в организм пациента последовательно.

5. Способ по п.4, **отличающийся** тем, что дополнительную суспензию вводят в организм пациента после введения основной суспензии.

05 6. Способ по п.4, **отличающийся** тем, что основную суспензию вводят в организм пациента после введения дополнительной суспензии.

7. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что основные и дополнительные суспензии готовят из тканей одного и
10 того же эмбриона.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/UA 98/00020

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 : A61K 35/54

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 : A61K 35/48, 35/54

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RU 95102200 A1 (NAUCHNY TSENTR AKUSHERSTVA, GINEKOLOGII I PERINATOLOGII RAMN et al) 20 January 1997 (20.01.97), the abstract	1-7
A	RU 95102184 A1 (NAUCHNY TSENTR AKUSHERSTVA, GINEKOLOGII I PERINATOLOGII RAMN et al) 20 January 1997 (20.01.97), the abstract	1-7
A	RU 2112525 A1 (INSTITUT KHIRURGII VOSTOCHNO-SIBIRSKOGO NAUCHNOGO TSENTRA SO RAMN) 10 June 1998 (10.06.98), the abstract	1-7
A	RU 2112526 C1 (EPSHTEIN OLEG ILICH) 10 June 1998 (10.06.98), the abstract	1-7
A,E	RU 2126260 C1 (TSENTR EMBRIONALNYKH TKANEI « EMSELL ») 20 February 1999 (20.02.99), the abstract	1-7



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
19 August 1999 (19.08.99)

Date of mailing of the international search report
26 August 1999 (26.08.99)

Name and mailing address of the ISA/RU

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/UA 98/00020

C. (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SU 1711896 A1 (NAUCHNO-ISSLEDOVATELSKY INSTITUT TRANSPLANTOLOGII I ISKUSSTVENNYKH ORGANOV) 15 February 1992 (15.02.92), the abstract	1-7
A	FR 2599972 (LAUMOND GERARD) 18 December 1987 (18.12.87), the abstract, the claims.	1-7
A	WO 96/30031 (THOMAS JEFFERSON UNIVERSITY) 3 October 1996 (03.10.96)	1-7

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка №

PCT/UA 98/00020

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

A61K 35/54

Согласно международной патентной классификации (МПК-6)

В. ОБЛАСТИ ПОИСКА:

Проверенный минимум документации (система классификации и индексы) МПК-6:

A61K 35/48, 35/54

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки:

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, поисковые термины):

С. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	RU 95102200 A1 (НАУЧНЫЙ ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ РАМН и др.) 20.01.97, реферат	1-7
A	RU 95102184 A1 (НАУЧНЫЙ ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ РАМН и др.) 20.01.97, реферат	1-7
A	RU 2112525 A1 (ИНСТИТУТ ХИРУРГИИ ВОСТОЧНО - СИБИРСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА СО РАМН) 10.06.98, реферат	1-7
A	RU 2112526 C1 (ЭПШТЕЙН ОЛЕГ ИЛЬИЧ) 10.06.98, реферат	1-7
A,E	RU 2126260 C1 (ЦЕНТР ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ "ЭМСЕЛЛ") 20.02.99, реферат	1-7

последующие документы указаны в продолжении графы С. ☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении

* Особые категории ссылочных документов:	Т более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения
A документ, определяющий общий уровень техники	Х документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну и изобретательский уровень
E более ранний документ, но опубликованный на дату международной подачи или после нее	У документ, порочащий изобретательский уровень в сочетании с одним или несколькими документами той же категории
O документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.	& документ, являющийся патентом-аналогом
P документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета и т.д.	"&" документ, являющийся патентом-аналогом
"P" документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета	

Дата действительного завершения международного поиска: 19 августа 1999 (19.08.99)

Дата отправки настоящего отчета о международном поиске: 26 августа 1999 (26.08.99)

Наименование и адрес Международного поискового органа:

Федеральный институт промышленной собственности
Россия, 121858, Москва, Бережковская наб., 30-1
Факс: 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо:

Л.Конюхова

Телефон № (095)240-58-88

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка №
PCT/UA 98/00020

С. (Продолжение), ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ		
Категория	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	SU 1711896 A1 (НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ТРАНС-ПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ) 15.02.92, реферат	1-7
A	FR 2599972 (LAUMOND GERARD) 18 decembre 1987, реферат, формула	1-7
A	WO 96/30031 (THOMAS JEFFERSON UNIVERSITY) 3 October 1996 (03.10.96)	1-7